

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1908-1909.

N° 1.

ÉTUDE

DE

QUELQUES MOISSURES THERMOPHILES

(*Aspergillus Micheli*, *Sterigmatocystis Cramer*, *Pœcilomyces Bainier*)



THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Novembre 1908.

PAR

Antoine JOURDE

Lauréat de l'École Supérieure de Pharmacie,
Membre de la Société Mycologique de France.

JURY { MM. RADAIS, Président
PERROT, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1908

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1908-1909.

N° 1.

ÉTUDE

DE

QUELQUES MOISSURES THERMOPHILES

(*Aspergillus Micheli*, *Sterigmatocystis Cramer*, *Pæcilomyces Bainier*)



THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

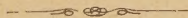
Présentée et soutenue le Novembre 1908.

PAR

Antoine JOURDE

Lauréat de l'École Supérieure de Pharmacie,
Membre de la Société Mycologique de France.

JURY { MM. RADAIS, Président
PERROT, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.



LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1908



PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUIGNARD, Directeur, Membre de l'Institut, O. ✱, 🌿 I.
BOUCHARDAT, Assesseur, ✱, 🌿 I.
E. MUSSON, Secrétaire, 🌿 I.

PROFESSEURS

MM. BOUCHARDAT, ✱, 🌿 I.	Hydrologie et Minéralogie
GUIGNARD, membre de l'Institut, O. ✱, 🌿 I.	Botanique générale.
VILLIERS-MORIAMÉ, 🌿 I.	Chimie analytique.
BOURQUELOT, ✱, 🌿 I.	Pharmacie galénique.
GAUTIER, ✱, 🌿 I.	Chimie minérale.
RADAIS, 🌿 I.	Cryptogamie.
BÉHAL, ✱, 🌿 I.	Chimie organique.
PERROT, 🌿 I.	Matière médicale.
COUTIÈRE, 🌿 I.	Zoologie.
BERTHELOT, 🌿 I.,	Physique.
GRIMBERT, 🌿 I.	Chimie biologique.
MOUREU, ✱, 🌿 I.	Pharmacie chimique.
LEBEAU, 🌿 I.	Toxicologie.

Professeurs honoraires :

MM. MARCHAND, 🌿 I. ; JUNGFLEISCH, ✱, 🌿 I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUERBET, 🌿 I.	MM. GUÉRIN, 🌿 I.
DELÉPINE, 🌿 I.	GUÉGUEN, 🌿 I.
TASSILLY, 🌿 I.	LUTZ, 🌿 I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, 🌿 I.	Chimie générale.
COUSIN, 🌿 I.	Chimie analytique.
PELTRISOT, 🌿 A.	Micrographie.
MOURLOT, 🌿 A.	Physique.
BARTHELAT, 🌿 I.	Microbiologie.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. VALEUR, 🌿 A.
Bibliothécaire : M. DORVEAUX, 🌿 I.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RADAIS.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR-AGRÉGÉ GUÉGUEN.

Hommage respectueux.

INTRODUCTION — HISTORIQUE

Les premiers végétaux signalés comme parasites furent des moisissures que DEGNER [23] et P. S. HORN [44] ont vu apparaître en 1739 sur le corps de vieillards atteints de gangrène sénile. MAYER (1815) trouve un thalle parasite dans les sacs aériens, les bronches et les poumons d'un Geai. JÆGER (1816) découvre des moisissures vertes dans les cavités aériennes d'un Cygne, HEUSINGER (1826) sur la face interne des sacs aériens d'une Cigogne, THEILE (1827) dans les poumons d'un Corbeau, OWEN (1833) dans les cavernes pulmonaires d'un Flamant, DESLONCHAMPS (1841) dans les sacs aériens, les bronches, les os du bassin et les membres supérieurs d'un Canard Eider. A la même époque, ROUSSEAU et SERRURIER (1841) observent une moisissure verdâtre dans les poumons d'une Perruche et rapportent le premier cas de mycose relatif à un mammifère, le *Cervus axis*. En 1842, MÜLLER et RETZIUS trouvent des moisissures dans les bronches et les sacs aériens d'un Faucon, REINHART chez une Oie, un Pingouin et un jeune Cormoran, RAYER et MONTAGNE dans les poumons d'un Bouvreuil, MAYER (1844) dans le pus d'une otorrhée, REMAK (1845) dans les crachats d'un pneumonique, SLUITER (1847) dans une caverne gangreneuse d'un poumon, SPRING (1848) dans l'un des sacs aériens d'un Pluvier. Charles

ROBIN (1853) donne le premier une description détaillée de la Mucédinée qu'il a rencontrée dans les poumons et les sacs aériens d'un Faisan mort de phtisie; il la nomme *Aspergillus nigrescens*, mais lui refuse tout rôle pathogénique. La même année, GAIRDNER trouve une moisissure dans la plèvre d'un phtisique et KUCHENMEISTER, en 1855, dans un cancer pulmonaire. VIRCHOW (1856) publie un important mémoire contenant trois cas très soigneusement observés et décrits de mycose bronchopulmonaire. RIVOLTA (1856) trouve des fragments de mycélium dans une tumeur pharyngienne du Cheval, et deux ans plus tard, GLÜGE et d'UDEKEM retrouvent des filaments identiques dans les voies aériennes d'un Aigle. BOUCHARD aurait, d'après CARVILLE, observé en 1866 des moisissures dans les poumons d'un Perroquet. GÖTTI (1871) rencontre des filaments mycéliens dans l'oreille d'un Chien, HAYEM (1873) dans les voies aériennes d'un Canard, et HEUSINGER (1875) dans celles d'un Flamant. A la même date (1875), FRESSENIUS décrit un *Aspergillus* trouvé dans les poumons d'une Outarde; il le figure sous le nom d'*Aspergillus fumigatus*.

Rappelons encore les observations de PECH (1876) sur des Chevaux nourris avec de la paille moisie, de ZÜRN (1876) sur une Vache trachéotomisée, de GENERALI (1879), de BOLLINGER (1880) et de KITT (1881) sur des Pigeons, de MARTIN (1884) sur un Cheval amaigri. PERRONCITO (1884) relate un cas d'aspergillose miliaire chez la Poule, et RÖCKL (1885), PIANA (1886) refont des observations identiques chez des Vaches. Après les mémoires de RÖLL (1885), de BIZARD et POMMAY (1887), DIEULAFOY, CHANTEMESSE et WIDAL démontrent (1890) que les gaveurs de pigeons

sont souvent contaminés par l'*Aspergillus fumigatus*, qui se rencontre assez fréquemment dans les tumeurs du plancher buccal de ces Colombins. RÉNON, en 1893, confirme ces faits et constate deux ans plus tard que ces affections mycotiques s'étendent à une deuxième catégorie professionnelle, celle des peigneurs de cheveux. LUCET publie en 1894 des observations importantes sur l'aspergillose chez les animaux domestiques. BOURNAY (1895) [9] rapporte un cas de mycose concernant une Vache. SCHVARTZ (1904) [81] trouve l'*Aspergillus fumigatus* chez une Femme atteinte de gangrène pulmonaire. COSTANTIN et LUCET [18] publient en 1905 quelques recherches sur les *Aspergillus* pathogènes. NICOLLE et PINOY [61] rapportent, en 1906, un cas de mycétome aspergillaire observé en Tunisie, et peu après BRUMPT [13] contribue à l'étude clinique des mycétomes par un grand nombre d'observations nouvelles. Signalons, en terminant, la revue de DUBREUILH (1891) [25] sur les moisissures pathogènes, la monographie des *Aspergillus* de WEHMER (1901) [90], les Traités importants de NEUMANN (1892) [60] sur les maladies non microbiennes des animaux, de GEDOELST (1902) [32] sur les champignons parasites de l'Homme et des animaux domestiques, de GUÉGUEN (1904) [35] sur les champignons parasites observés dans toute la série animale.

« Si l'on met à part, écrit ce dernier auteur, les *Asper-*
« *gillus repens*, *glaucus* et *flavus*, qui, en éliminant les
« cas douteux de pneumomycose, paraissent être bien plus
« des saprophytes que de véritables parasites, on voit
« qu'il n'y a de véritablement pathogènes que les *Asper-*
« *gillus* de la section *fumigatus*, le *Sterigmatocystis*

« *nidulans* et peut-être le *Sterigmatocystis nigra*. Si l'on
« considère que les deux principales conditions réalisées
« par les Mucorinées pathogènes (spores d'un diamètre de
« 2 à 6 μ , optimum cultural voisin de 37°) sont également
« remplies par ces Aspergillées, on est conduit à supposer
« que tout *Aspergillus* et *Sterigmatocystis*, et peut-être
« toute Mucédinée présentant ces deux particularités
« réunies, est susceptible de devenir pathogène pour les
« animaux supérieurs ». Soumettre cette hypothèse au
contrôle de l'expérimentation, tel a été le but de notre tra-
vail. Pour le mener à bien, monsieur le Professeur RADAIS
a mis à notre disposition toutes les ressources de son labo-
ratoire, et nous a toujours témoigné le plus grand intérêt.
Monsieur le Professeur-agrégé GUÉGUEN, qui nous a donné
l'idée première de ces recherches, a bien voulu nous guider
dans leur accomplissement et nous a constamment pro-
digué ses savants conseils; les nombreux travaux de ce
mycologue sur la biologie des champignons microscopi-
ques nous ont été d'un précieux concours. Monsieur BAINIER
nous a généreusement ouvert la riche Mycothèque de
l'Ecole de Pharmacie qui nous a permis de faire porter nos
premiers essais sur plus de trente formes de Mucédinées.
Monsieur SARTORY nous a aidé de sa grande expérience
dans l'étude délicate de l'histologie pathologique. C'est
un devoir et un plaisir pour nous d'exprimer ici à tous, nos
respectueux sentiments de bien vive gratitude et de pro-
fonde reconnaissance.

Nos recherches se sont limitées à la tribu des Périspo-
riées. Seize espèces de *Penicillium* ont été ensemencées
sur Raulin normal, bouillon et carotte et placées à l'étuve
à 37°. Après quinze jours, nous avons examiné au micros-

cope une parcelle de chacun de ces milieux. Quelques conidies avaient augmenté de volume, d'autres présentaient une hernie latérale simulant un début de germination ; le trentième jour, aucun filament mycélien ne s'était encore développé. Sur cinq *Aspergillus* soumis au même essai, trois ont donné un résultat semblable ; l'*Aspergillus clavatus* Desmazières émit quelques maigres filaments et seul l'*Asp. fumigatus* Fresenius se recouvrit de fructifications en 48 heures. Il nous restait à examiner à ce point de vue le genre *Sterigmatocystis* Cramer ; sur quatorze espèces placées dans les mêmes conditions que précédemment, cinq donnèrent un thalle vigoureux après 24 heures ; les *St. nidulans* Eidam, *lutea* Bainier, *fusca* Bainier, *nigra* Van Tieghem et *carbonaria* Bainier forment leurs appareils reproducteurs dès le deuxième ou troisième jour. En ajoutant à ces six moisissures, le *Pœcilomyces Varioti* Bainier, étudié précédemment par nous [47], nous réunîmes ainsi sept Mucédinées capables de se développer à la température de 37°. Ces espèces seules ont servi aux expériences dont l'exposé va suivre.

PREMIÈRE PARTIE.

Les Périsporiées appartiennent à l'ordre des Ascomycètes ; leurs asques sont protégés par un périthèce clos à coque dure, sessile et indéhiscence. Ces formations ascosporeées font défaut dans la plupart de nos espèces ; sauf dans le *Sterigmatocystis nidulans*, nous n'avons observé, en effet, que l'appareil conidien. A l'extrémité de filaments différenciés se succèdent les conidies, petits corpuscules arrondis ou ovales, lisses ou échinulés. La forme, la structure et les dimensions de ces appareils reproducteurs, qui servent à la détermination, ne sont pas toujours identiques à elles-mêmes. L. LUTZ [56], en cultivant le *Sterigmatocystis nigra* sur des liquides à base de propionamide et butyramide, a observé des anomalies résidant « dans la décoloration des spores, la dimension du nombre « des basides et leur hypertrophie ». Ces formes étranges n'ont pu être fixées, et par repiquage sur carotte elles redeviennent normales. « Quoiqu'il en soit de l'instabilité « de ces variations, elles n'en viennent pas moins montrer une fois de plus, combien il est imprudent de créer « des espèces nouvelles sur un simple examen d'échantillons en apparence distincts de ceux déjà connus, si on « ne les a pas soumis au préalable à une rigoureuse expérimentation sur des milieux de culture convenablement « choisis et uniformes pour tous les organismes de même « nature. »

En 1898, GRIMBERT appelait l'attention des bactério-

logues sur la nécessité d'adopter un plan constant pour la détermination et l'identification des espèces microbiennes. L'extension de cette méthode de travail à l'étude des champignons inférieurs fut proposée en 1900, au Congrès international de Botanique, par LUTZ et GUÉGUEN [57]. Le but de ces auteurs a été : 1° De déterminer et de fixer la composition des milieux de culture universellement employés et le mode rationnel de leur préparation ; 2° d'établir des règles conventionnelles pour l'examen des propriétés morphologiques et physiologiques d'un organisme. Nous avons essayé de réaliser le plan que ces auteurs ont tracé ; la première partie de ce travail sera uniquement consacrée à l'exposé détaillé des méthodes suivies par nous pour l'étude morphologique, biologique et pathologique des Mucédinées. Dans la seconde partie, nous donnerons les résultats que nous ont fournis ces méthodes, appliquées aux sept Mucédinées sur lesquelles ont porté nos recherches.

CHAPITRE PREMIER.

Technique pour l'étude morphologique.

La composition des milieux de culture ayant, comme on l'a vu, une influence marquée sur l'organisation générale de la moisissure, il est nécessaire de connaître la préparation des plus usités d'entre eux.

Raulin normal. — RAULIN [70] après des expériences remarquables a établi en 1870 la composition d'un liquide artificiel où la plupart des Mucédinées et même beaucoup d'autres champignons microscopiques peuvent emprunter les éléments nécessaires à leur développement.

Sucre candi.....	70 gr.	Sulfate d'ammoniaque.	0,25
Acide tartrique.....	4 —	— de zinc.....	0,07
Azotate d'ammoniaque..	4 —	— de fer.....	0,07
Phosphate —	0,6	Silicate de potasse...	0,07
Carbonate de potasse ...	0,6	Eau distillée.....	1500 cc.
— magnésie..	0,4		

On ne peut de cette formule retrancher un sel le plus inutilisable en apparence pour l'organisme, sans que la plante ne ressente les effets de cette soustraction. Pour des cultures de *Sterigmatocystis nigra* placées à 35° et pesées après trois jours, les récoltes tombent :

de 14 gr. 1 à 10 gr. 2, après soustraction de silicate de potasse.

— 9 gr. à 3 gr. 5,	—	—	sulfate de fer.
— 9 gr. à 2 gr. 6,	—	—	sulfate de zinc.
— 14 gr. 4 à 0 gr. 8,	—	—	carbonate de potasse.

Ces résultats, donnés par RAULIN, ont été parfois contestés.

MOLLIARD et COUPIN [59] reconnaissent l'influence manifeste de l'absence de potassium, surtout marquée dans la constitution des appareils conidiens ; mais COUPIN [19], après une série d'expériences, conclut que : « 1° Le fer, le silicium et le zinc ne sont d'aucune utilité dans la nutrition du *Sterigmatocystis nigra* ; 2° Le zinc même retarde le développement du mycélium quand la nourriture est abondante, et le tue quand il est mal nourri. » En 1907-1908, JAVILLIER [45-46] confirme au contraire les résultats de RAULIN, quant à l'influence favorable du zinc sur l'accroissement de la Mucédinée. Le minéral est fixé en totalité par la plante, lorsque sa dilution est égale ou supérieure à 1/250.000 : une proportion de 1/50.000.000 de zinc dans le milieu de culture possède une action favorisante manifeste ; la dose ne devient toxique qu'au-dessus de 1/25.000.

Sur ce liquide de Raulin, milieu de choix pour les champignons inférieurs, une première transplantation est parfois insuffisante pour observer des formes mycéliennes et reproductrices toujours comparables à elles-mêmes. J. RAY [71], ERRERA [29] et tout récemment SARTORY [75] ont montré qu'un organisme transplanté dans un milieu différent de celui où il a coutume de végéter, arrive après quelques générations à s'y adapter ; de telle sorte que si on le repique dans le milieu primitif, il repasse par la phase inverse et ne redonne qu'après plusieurs repiquages le type d'où l'on est parti. En rappelant ce fait, nous supposons que bien des formes d'*Aspergillus* pathogènes, décrites comme espèces voisines du *fumigatus*, auraient pu, après une série de cultures sur même milieu, être identifiées à l'*Aspergillus fumigatus* de Fresenius.

Raulin neutre.— Si l'acidité du liquide de Raulin est en général favorable au développement du champignon, elle

devient un obstacle dans certain cas ; on remplace alors l'acide tartrique par une quantité équivalente de tartrate neutre de potasse dans la solution précédente. Ce Raulin neutre nous donnera des milieux solides par addition de 10 à 12 % de gélatine ou 2 % de gélose.

Pomme de terre et Carotte. — On les prépare suivant les méthodes usuelles usitées en bactériologie.

Pomme de terre acide. — On fait macérer pendant 24 heures les fragments de pomme de terre dans une solution d'acide lactique à 1 % et on les introduit dans les tubes de Roux avec une petite quantité de la même solution.

Bouillon. — La préparation se fait soit avec de la viande hachée, comme l'indique GRIMBERT [34], soit plus rapidement en ajoutant à 1500 grammes d'eau, 30 grammes peptone, 7 gr. 5 glucosé et 75 grammes glycérine. On neutralise avec de la soude au 1/10 jusqu'à légère alcalinité et, comme avec le Raulin, on solidifie par la gélatine ou la gélose.

Tous ces liquides ou solides sont placés dans des vases de culture, bouchés au coton et recouverts d'une capsule d'étain. Une stérilisation à 110° pendant un quart d'heure est toujours suffisante et on évite ainsi d'obtenir des pommes de terre pâteuses et des liqueurs troubles. Ces milieux, avant d'être portés à l'étuve, sontensemencés, à l'aide d'un fil de platine flambé, de conidies provenant de cultures récentes.

Examen microscopique. — Il a lieu avec ou sans coloration. Dans ce dernier cas, on peut monter simplement à l'eau la préparation ou recourir à la méthode de CROOKSHANK [21]. On dépose une goutte de glycérine sur une lame et une goutte d'alcool sur une lamelle, on immerge les filaments mycéliens dans l'alcool, on renverse

la lamelle sur la glycérine et on porte le tout sur une flamme jusqu'à apparition de bulles gazeuses.

La coloration peut être obtenue avec les solutions très étendues de fuchsine de Ziehl, de thionine phéniquée de Nicolle, de bleu de méthylène, de violet de gentiane, de safranine ou d'éosine. Le colorant de choix est le bleu lactique, de conservation indéfinie et d'emploi très facile ; il a l'avantage de fournir des préparations transparentes. Pour le préparer, on dissout à froid 0 gr. 15 de bleu coton (Bleu C⁴B Poirrier [38]) dans 100 grammes d'acide lactique pur, et on filtre. Une gouttelette placée sur une lame et chauffée jusqu'à production de légères vapeurs colore le contenu cellulaire en bleu foncé et parfois la membrane en teinte plus claire. Le colorant triple de GUÉGUEN [40] nous a aussi rendu de grands services ; ce réactif employé comme le bleu lactique, permet de voir les matières grasses colorées en orange vif, l'amidon en violet, et le glycogène en brun acajou, le tout tranchant vivement sur le fond bleu du protoplasme.

Cultures cellulaires. — Par la dissociation ou par la coloration en masse nous avons observé les formes variées du mycélium et la structure de l'appareil reproducteur ; rien jusqu'à présent ne nous a révélé le véritable aspect du champignon à l'état vivant, les manipulations précédentes ayant disloqué les parties fragiles (chainettes de conidies, etc.) de l'organe fructifère. Pour connaître le champignon avec plus de précision, nous avons pratiqué des cultures en cellule de VAN TIEGHEM [89]. Un anneau de verre est fixé sur une lame à l'aide de paraffine ou de baume de Canada ; puis on dépose sur cet anneau, à la manière d'un couvercle débordant, une lamelle mince flambée, où l'on a placé à la face inférieure une très fine gouttelette de Raulin stérilisé. Pour éviter la dessiccation on met quelques gouttes d'eau dans cette petite chambre

et on lute à l'aide d'un peu de vaseline ou d'huile de ricin, après avoirensemencé. On pourra ainsi observer le développement du champignon avec des objectifs forts à sec. Pour des grossissements plus élevés, on porte la lamelle, la face ensemencée tournée vers le haut, dans l'acide acétique cristallisable ou mieux dans l'alcool absolu, ce qui empêche les conidies de trop se détacher de leurs fragiles supports ; et on monte en glycérine ou l'on colore comme pour les cultures en masse.

Mensuration.— Un dessin est souvent plus démonstratif qu'une longue description, aussi nous donnons en quelques planches les formes principales rencontrées dans les cultures courantes. Nous les avons dessinées à la chambre claire de Malassez et au grossissement indiqué. Basides, stérigmates et conidies sont mesurés à l'aide du micromètre-objectif, le μ étant pris comme unité.

CHAPITRE II.

Technique pour l'étude biologique.

Connaissant la morphologie générale d'une Mucédinée, nous considérerons maintenant l'action produite sur le développement du champignon par les agents physiques (température), ou chimiques (acides et alcalis), et réciproquement les changements apportés par la culture de la plante dans la composition des milieux où elle végète (milieux sucrés ou milieux azotés).

Influence de la température. — Toute moisissure vit dans des limites de température variables pour une même espèce, mais dans l'échelle thermique il est un point où sa croissance est maxima, ce point marquant l'optimum de température de l'espèce considérée. GUÉGUEN [37], pour son *Sterigmatocystis auricoma*, distingue par définition l'optimum de germination de l'optimum de croissance.

L'optimum de germination est la température où l'allongement des filaments mycéliens est le plus considérable au bout d'un temps donné. Pour le déterminer, nous commençons six tubes de Raulin que nous mettons dans des étuves réglées à 22°, 27°, 32°, 37°, 42° et 50°. Après 24 heures, un prélèvement opéré dans chaque tube permet de mesurer au microscope la longueur des hyphes émises par les conidies. Au début, nous avons employé les cultures cellulaires dont l'examen est facile aux basses températures, mais à 42° ou 50° la préparation se trouve rapide-

ment desséchée. Pour éviter l'évaporation, nous avons bien luté à la paraffine, mais alors la gouttelette d'eau ajoutée pour maintenir l'humidité se condense sur la lamelle et dilue le milieu nutritif. Nous avons donc, par la suite, abandonné ce procédé.

L'optimum de croissance est indiqué par le poids maxima de la récolte obtenue, au bout d'un même nombre de jours, dans des matras identiques. A l'aide d'une boucle de platine on ensemence superficiellement des ballons de 50 cc contenant 25 cc de Raulin normal que l'on place à 22°, 27°, 32°, 37°, 42° et 50°. Cinq jours après, le contenu de chacun d'eux est tué par la chaleur et jeté sur un filtre taré. Après plusieurs lavages pour éliminer toute trace de sels minéraux, on dessèche le filtre à l'étuve et on le pèse. La différence obtenue donne le poids du mycélium. Pour des températures voisines, il est souvent difficile d'établir des chiffres exacts ; les voiles, qui se sont formés à la surface du Raulin, s'épaississent, se feutrent, diminuent, par leur action respiratoire, les proportions d'oxygène contenu dans l'atmosphère du matras et appauvrissent en éléments nutritifs le liquide sous-jacent. Dans ces conditions de végétation exubérante et étouffée, les voiles présentent après cinq jours le même aspect et sensiblement le même poids. Pour avoir des différences bien marquées, dans une semblable expérience, nous effectuons les pesées dès le troisième jour. C'est dans ces conditions que furent obtenus les résultats que nous donnerons plus loin pour chaque Mucédinée et qui nous permettront de déterminer avec une suffisante précision l'optimum de température.

Influence des acides et des alcalis. — « Tandis que le « *Sterigmatocystis nigra* ne se développe bien que dans « un milieu acide, l'acidité est au contraire une très mau- « vaise condition d'existence pour le *Sterigmatocystis* « *versicolor*, qui en est morphologiquement très voisin.

« Dans le liquide de Raulin intégral, par exemple, la présence d'acide tartrique le fait pousser avec une extrême lenteur et de plus l'empêche de sporuler, alors que dans le liquide de Raulin sans acide tartrique il se développe normalement. » (COUPIN et FRIEDEL [20]). Cette différence considérable entre les appétences chimiques de plantes très voisines conduit à établir pour chacune d'elles les quantités d'acide ou d'alcali susceptibles d'arrêter toute culture. Nous avons choisi pour ces essais : les acides chlorhydrique, azotique, sulfurique, la potasse, la soude et l'acide oxalique parmi les composés organiques. Les solutions titrées d'acide tartrique ne peuvent être conservées, car elles se remplissent de filaments de moisissures, qui végètent aux dépens du corps dissous. Pour nous rendre compte si l'acide tartrique n'aurait pas à haute dose quelque influence retardatrice, nous avons effectué cependant des cultures de toutes nos Mucédinées sur milieux renfermant en acide tartrique les doses-limites obtenues avec les autres acides. L'action favorable en fut manifeste et le développement plus rapide que sur Raulin neutre ; parmi nos champignons, aucun ne se rapprochait à ce point de vue du *Sterigmatocystis versicolor*. RAULIN a trouvé que le poids des récoltes du *Sterigmatocystis nigra* diminue quand la proportion d'acide tartrique arrive à 63 gr. par litre et devient à peu près nul pour une dose de 250 gr. Ce maximum ne serait certainement pas atteint par nos autres *Sterigmatocystis* dont les limites d'acidité sont inférieures à celles du *St. nigra* ; mais, quand un organisme végète dans un milieu renfermant une quantité aussi élevée d'acide tartrique, peut-on considérer ce corps comme nuisible, alors que ce même *Sterigmatocystis* ne cultive plus dans du Raulin renfermant :

5 gr. 29	d'acide chlorhydrique	par litre ou		
6 gr. 50	— azotique		—	—
9 gr. 26	— sulfurique		—	—
21 gr. 43	— oxalique		—	—

Pour étudier le rôle des acides ou des alcalis sur le développement de nos espèces, nous avons employé les liqueurs normales de chacun des composés mis en expérience ; cela permet, en négligeant leurs tensions superficielles légèrement différentes, de comparer l'action nocive des molécules entre elles :

Acides :	1 goutte de la sol. Nd'ac. chlorhydrique contient.....	0,001825 de HCl
	1 goutte de la sol.N d'ac. azotique contient.....	0,00315 de AzO^3H
	1 goutte de la sol.N d'ac. sulfurique contient.....	0,00245 de SO^4H^2
	1 goutte de la sol.N d'ac. oxalique contient.....	0,00315 de $\text{C}^2\text{O}^4\text{H}^2 + 2\text{H}^2\text{O}$
Alcalis :	1 goutte de la sol.N de potasse contient.....	0,0028 de KOH
	1 goutte de la sol.N de soude contient.....	0,002 de NaOH.

Chacune de ces solutions est ajoutée à 10^{cc} de Raulin neutre au tournesol dans la proportion suivante : tube n° 1, témoin ; tube n° 2, IV gouttes ; tube n° 3, VIII gouttes et ainsi de quatre en quatre gouttes jusqu'à quarante. Dans les cas assez rares où ce nombre n'est pas suffisant, nous concentrons à 8^{cc} les 10^{cc} de Raulin et on continue par quarante-quatre, quarante-huit, etc., jusqu'à quatre-vingts gouttes. Les tubes sont ensuiteensemencés de conidies et placés à l'étuve à 37°.

Les résultats obtenus ne sont pas d'une valeur absolue, pour les raisons suivantes :

A) Plus nous ajoutons de solution normale dans un tube, plus nous augmentons la quantité d'eau. Pour déterminer l'influence de cette dilution du liquide nutritif, nous avons fait des cultures sur Raulin normal et Raulin dilué au 1/5. L'aspect restant le même pendant les huit jours d'observation, nous avons dû avoir recours à la pesée pour noter de légères différences :

	Raulin normal	Raulin dilué au 1/5
<i>Aspergillus fumigatus</i> ...	381 milligr.	348 milligr.
<i>Sterigmatocystis lutea</i> ...	402 —	347 —
<i>Pœcilomyces Varioti</i>	280 —	243 —

Nous avons opéré ici avec la dilution maxima qui n'est jamais dépassée ; il est donc permis de considérer les tubes extrêmes comme ayant sensiblement même pouvoir nutritif.

B) Sous l'action d'un acide, le saccharose peut s'intervertir en totalité ou en partie. GUÉGUEN [36] a montré que le *Penicillium glaucum* se développe mieux sur un mélange de glucose et de lévulose que sur le saccharose. Ce dernier, après interversion, est en général, dit LABORDE [51], « un aliment de prédilection pour les moisissures ». Nous avons aussi remarqué que les cultures sur glucose et saccharose sont après quelques jours identiques. De fait, on doit considérer l'interversion comme augmentant la valeur nutritive du milieu.

C) Lorsqu'un acide est ajouté à du Raulin neutre, il se trouve saturé en partie par la potasse et la magnésie ; mais surtout, il déplace, dans le cas de l'acide sulfurique par exemple, l'acide azotique de l'azotate d'ammoniaque.

Dans 10^{cc} de Raulin contenant 0 gr. 03 de ce sel, il peut y avoir $\frac{63 \times 0,03}{80} = 0 \text{ gr. } 0236$ d'acide azotique libre ; cette dose n'est même pas suffisante pour arrêter le développement du *Sterigmatocystis nidulans*, qui s'est montré la plus sensible de nos Mucédinées à l'action de l'acide azotique (dose-limite pour 10^{cc} de Raulin = 0 gr. 0378). Cependant RAULIN explique par la présence de cet acide, plus funeste peut-être à la végétation, les différences entre ses résultats et ceux trouvés par VAN TIEGHEM au sujet des quantités d'acide sulfurique capables d'arrêter la croissance du *Sterigmatocystis nigra*.

Nous négligerons encore cette dernière cause d'erreur qui est la plus importante de celles que nous venons d'énumérer, et nous appellerons tube-limite celui dans lequel,

après quinze jours, il n'y a pas eu de culture apparente. Appliquant ici la méthode très précise donnée par GUÉGUEN [42] pour la détermination des pouvoirs antiseptiques, nous concluons que la proportion d'acide ou d'alcali, contenue dans le tube resté stérile, a produit l'inhibition. Soit P , le poids du tube plein ; p , le poids du même tube vidé et séché ; $P-p$ représente le poids du liquide (Raulin + solution normale). Soit, d'autre part, h le poids d'acide ou d'alcali contenu dans une goutte de la solution ; n , le nombre de gouttes introduites, la formule $\frac{P-p}{h \times n}$ exprimera le pouvoir inhibitoire.

Action sur les composés sucrés et azotés. — Tous les aliments ne sont pas directement assimilables par les êtres vivants ; ils doivent subir au préalable une transformation moléculaire qui s'opère sous l'action de substances actives sécrétées par l'organisme, et auxquelles on donne le nom d'enzymes. DUCLAUX [26] a réussi à déceler dans l'*Aspergillus niger* la sucrase et l'amylase ; BOURQUELOT [10] y a démontré en outre la sécrétion de tréhalase, d'émulsine, d'inulase et de trypsine. Nous ne rechercherons ici qu'un petit nombre de ces enzymes, particulièrement ceux d'un intérêt biologique ou industriel ; la trypsine, la présure et la caséase parmi les ferments protéolytiques ; la zymase alcoolique, la sucrase, la maltase, la lactase et l'amylase parmi les ferments des hydrates de carbone.

Trypsine. — Elle transforme l'albumine en albumose et peptone. Pour préparer le milieu-réactif, on prend parties égales d'albumine d'œuf de poule frais et d'eau distillée, on agite vivement, on passe sur un carré de tarlatane pour séparer les membranes, on répartit dans des tubes inclinés et on stérilise par tyndallisation à 100°.

Les tubes sont examinés un mois après leur inoculation. S'il y a présence de trypsine, le blanc d'œuf devient trans-

parent, se liquéfie peu à peu et la liqueur filtrée donne la réaction du biuret (lessive de soude: 4^{cc} + quelques gouttes, sol. de sulfate de cuivre à 1 p. 0/0, dans 1^{cc} liqueur = coloration violette).

Présure et caséase. — La préparation du lait qui sert à la recherche de ces ferments se réduit, après écrémage, à une simple stérilisation à 110°. Après quinze jours de culture, le milieu a subi. A) soit une *coagulation* (qui provient parfois de la transformation du lactose en acide lactique; mais qui sera due à la présure si elle se produit dans un second essai avec du lait contenant du carbonate de chaux pur et précipité, destiné à neutraliser l'acide au fur et à mesure de sa production); B) soit une *peptonification*. (Les flocons de caséine sous l'action de la caséase disparaissent peu à peu, « pour donner naissance à un liquide jaunâtre, un peu visqueux et opalescent »). Mais ce ferment peut être le seul produit par le champignon et « le lait sans se coaguler se transforme peu à peu en un liquide transparent et jaunâtre » (GRIMBERT [34]). C'est encore ce qui se produit lorsque la caséase plus abondante que la présure masque la présence de cette dernière en peptonifiant la caséine avant que la présure puisse agir.

Zymase alcoolique. — Pour l'étude de cet enzyme et des suivants, nous employons du Raulin neutre, non sucré, additionné de 5 0/0 d'hydrate de carbone, que l'on répartit par 20^{cc} dans de petits matras. On stérilise par tyndallisation à 80° pour éviter l'altération de certains sucres, et après inoculation on laisse à l'étuve à 37° pendant quinze jours. Nous n'analyserons pas les produits complexes qui ont pu se former; nous constaterons seulement, par des réactions simples, les changements survenus dans la composition du milieu. Le Raulin glucosé, s'il y a sécrétion de zymase alcoolique, contient de l'alcool que nous mettons ainsi en évidence: 10^{cc} de la liqueur distillée sont divisés

en deux parts. On ajoute : à l'une, 1 goutte de bichromate de potasse au $1/10 + 5$ gouttes d'acide sulfurique et l'on chauffe : la coloration passe du jaune au vert ; à l'autre, 1^{cc} d'iodure de potassium au $1/10 + 10$ gouttes de lessive de soude et goutte à goutte de l'hypochlorite de soude ; il se forme de l'iodoforme reconnaissable à son odeur et à l'examen microscopique (lamelles hexagonales).

Sucrase. — Produit l'intéversion du saccharose. Le lévulose formé est lévogyre et son pouvoir rotatoire est en valeur absolue beaucoup plus élevé que celui du glucose ; ils réduisent tous les deux la liqueur de Fehling. Les propriétés optiques et réductrices de la solution indiquent nettement la réaction.

Maltase. — Dédoublé le maltose en deux molécules de glucose. Le pouvoir rotatoire du premier est de $+138^{\circ},38$, celui du second : $2 \times +52,74$; la rotation à droite de la solution est diminuée, mais on a une augmentation du pouvoir réducteur, ce dernier étant pour le maltose les $2/3$ environ de celui du glucose.

Lactase. — Hydrolyse le lactose et donne du glucose et du galactose. Ces trois sucres sont dextrogyres. Le pouvoir rotatoire du galactose étant un peu plus élevé que celui des deux autres, la rotation à droite sera légèrement supérieure ; mais pour plus de certitude nous employons la phénylhydrazine qui, dans les cas précédents, peut aussi être utile. La présence de glucosazone se formant à chaud, soluble dans l'alcool méthylique et l'acétone diluée au demi, complètera heureusement l'examen polarimétrique.

Amylase. — Sous l'action de cet enzyme, la gelée d'amidon, de consistance demi-solide, se désagrège peu à peu et donne naissance à un liquide clair ou opalescent,

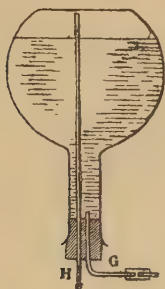
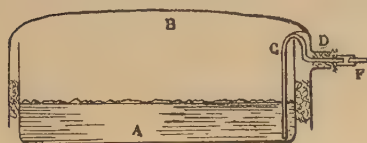
qui avec l'eau iodée prend une teinte successivement violacée, rouge (erythro-dextrines) et jaune. Quand on n'obtient plus de coloration, l'amidon se trouve remplacé par un mélange de dextrines (achro-dextrines) et de maltose. « Presque toujours cependant, avec la diastase ordinaire « ou avec les sécrétions organiques réputées comme ren- « fermant de la diastase, il se forme, outre ces deux corps, « du dextrose ; c'est que cette diastase ou ces liquides « renferment de la maltase » (BOURQUELOT [11]).

LABORDE [51] a désigné sous le nom d'amylo-maltase ce double ferment qu'il croit unique et spécial à quelques moisissures, et dont l'action diffère de celle de l'amyrase en ce que le terme maltose se trouve dépassé. Il a remarqué que l'*Eurotiopsis Gayoni*, l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum*, végétant sur l'amidon, le dédoublent jusqu'à le conduire au terme glucose.

Tous ces enzymes seraient facilement mis en évidence par les réactions que nous venons d'indiquer, si les produits de dédoublement demeuraient en quantité constante, mais la nutrition protoplasmique en absorbe une grande part et fausse dès lors nos résultats. Aussi, pour rechercher ces ferments, mettrons-nous en œuvre le procédé bien connu de DUCLAUX, qui consiste à obtenir un liquide de macération du thalle vivant. Pour éviter l'introduction dans ce liquide d'organismes microbiens apportés par l'air ou les vases d'expérience, nous avons imaginé le dispositif suivant [47], qui permet d'opérer aseptiquement.

Un cristalliseur humide A est recouvert d'un vase plus large B, à fond bombé ; dans une tubulure latérale D passe un tube recourbé C, dont la branche verticale descend jusqu'au fond du cristalliseur, le bout extérieur du tube étant muni d'un raccord de caoutchouc que bouche une baguette de verre F. On garnit de coton cardé la tubulure et l'espace existant entre les parois des deux vases. Pour faciliter le maniement de l'appareil, on insère

dans l'espace annulaire quelques tronçons de tube de caoutchouc, qui assurent un calage parfait. Le vase à culture étant ainsi préparé, on le stérilise à l'autoclave à 120°. D'autre part, on dispose un ballon contenant 50^{cc} de Raulin et dont le bouchon est traversé de deux tubes ;



l'un G coudé à angle droit pénètre légèrement à l'intérieur, l'autre H plonge jusqu'au fond du liquide ; l'un et l'autre sont fermés par un peu de coton. Le tout étant stérilisé, on ensemence avec des conidies de la Mucédinée. Pour transvaser aseptiquement le liquide dans le cristalliseur, on retourne le ballon le col en bas, le tube G étant préalablement relié au tube C. Trois

jours après, on suture, à l'aide d'un siphon, par ce même tube C, tout le liquide qui se trouve sous le voile. Sans déchirer ce dernier, et en opérant comme précédemment, on renouvelle une seconde fois le liquide de Raulin que l'on siphonne à nouveau après trois jours. Le voile est enfin lavé pendant 5 à 6 heures à l'eau distillée, dont on remet 50^{cc} en contact avec la culture pendant 48 heures. La plante abondamment nourrie, se trouvant ainsi privée de substances nutritives, commence à utiliser ses réserves ; les diastases sont alors sécrétées en grande quantité. Elles se dissolvent dans le liquide sous-jacent, qui ne contient en outre qu'un peu de matière organique et des traces de sels minéraux. Ce liquide, décanté et filtré aseptiquement, est réparti par dose de 5^{cc} dans des tubes contenant, soit de

petits cubes d'albumine coagulée ou de fromage blanc, soit du lait additionné de CO_3Ca et de 2 $\frac{0}{100}$ de CaCl_2 , soit 20 cc de solution à 5 $\frac{0}{100}$ de glucose, saccharose, lactose ou maltose, soit enfin de l'empois d'amidon à 5 $\frac{0}{100}$ et stérilisés préalablement par tyndallisation. Tous ces mélanges sont laissés quatre jours à l'étuve à 37° et analysés d'après les méthodes indiquées pour les cultures directes. Des tubes-témoins, dans l'un et l'autre cas, serviront de termes de comparaison.

Par ce procédé, le seul que nous ayons employé, nous n'obtenons que les diastases extra-cellulaires, celles qui émigrent en dehors de la membrane et se dissolvent dans le liquide ambiant. Dans le *Monilia candida*, dont la nutrition se fait avec le saccharose, HANSEN n'a pas rencontré de sucrase, mais FISCHER y découvrit cet enzyme qui, retenu fortement par le protoplasme, n'apparaît pas à l'extérieur. De même, BOURQUELOT et GRAZIANI [12] ont démontré que le *Penicillium Duclauxii* contenait de l'invertine, mais ne la laisse pas diffuser au dehors. Pour obtenir ces diastases intra-cellulaires, il est nécessaire de déchirer les parois de la cellule en broyant le thalle avec du sable et de l'eau. BOURQUELOT [10] a ainsi extrait la plupart des ferments de l'*Aspergillus niger* et PINARD [66] ceux des *Aspergillus repens* et *clavatus*. Le procédé de BÜCHNER pour les levûres a été aussi appliqué aux Mucédinées; JUNITZKY [48], en broyant une grande quantité de cultures mycéliennes avec du sable fin et en exprimant le mélange sous une pression de 300 kilog. par centimètre carré a extrait de l'*Aspergillus niger* un suc transformant rapidement le glucose en alcool et en gaz carbonique. Le mycélium de ce champignon renferme donc une zymase alcoolique en plus des autres ferments énumérés.

Nous nous abstiendrons de donner les résultats négatifs obtenus dans nos recherches, en voyant combien de ferments solubles ne peuvent être mis en évidence par notre

méthode. De plus, la production des enzymes pour un seul et même être est en rapport avec le mode d'alimentation et nous avons employé exclusivement le Raulin normal comme milieu nutritif.

CHAPITRE III.

Technique pour l'étude pathogénique.

La plupart des affections mycotiques, que nous avons citées au début de ce mémoire, s'observent chez des animaux sauvages conservés en captivité depuis plus ou moins longtemps. Aussi certains auteurs, SPRING [84] et ROBIN [73] entre autres, ont considéré les Mucédinées comme des saprophytes, contaminant seulement des organes affaiblis ou malades. « L'expérimentation prouve, au contraire, que les moisissures, au moins celles dont l'évolution se fait à une température élevée, sont capables de développer une affection spéciale, ayant sa gravité propre, parfois contagieuse et même épizootique » (LUCET).

GROHE et son élève BLOCH, en 1870, injectent les premiers dans les veines d'un lapin, 2 à 3^{cc} d'une émulsion de conidies d'*Aspergillus glaucus*, de *Penicillium glaucum* et de levûres. Les animaux meurent en 30 ou 36 heures et à l'autopsie on trouve, surtout dans le rein, un semis de points blancs formés par un mycélium, se développant au milieu d'un tissu nécrosé, infiltré de leucocytes. GRAWITZ, en 1877, reprend ces expériences avec les mêmes organismes, et obtient des résultats négatifs; il en conclut que GROHE avait dû injecter des spores d'un champignon virulent en même temps què celles du *Penicillium*

et de l'*Aspergillus*. Trois ans plus tard, GRAWITZ admet à tort qu'une moisissure inoffensive devient pathogène si on l'amène graduellement à cultiver à 37° sur un milieu alcalin et liquide comme le sang, et que la virulence disparaît par retour aux conditions normales de végétation. Ces assertions un peu surprenantes suscitent de nouvelles recherches de KOCH et GAFFKY (1881), dont les expériences montrent que, quels que soient les moyens de culture employés, l'*Aspergillus glaucus* est toujours pathogène et jamais ne le sont le *Penicillium glaucum* ni l'*Aspergillus niger*. L'année suivante, BAUMGARTEN et MULLER obtiennent des résultats analogues et KAUFMAN suppose que, dans les cultures de GRAWITZ, l'*Aspergillus glaucus* cultivant bien à 37° était remplacé à la température ordinaire par l'*Aspergillus niger* non virulent. Il résulta de ces affirmations contradictoires une polémique assez vive entre KOCH et GRAWITZ. LICHTHEIM (1882) mit fin à leur discussion, en démontrant que ces auteurs avaient expérimenté avec des espèces diverses, inexactement déterminées ou dont les cultures étaient impures. Le champignon désigné sous le nom d'*Aspergillus glaucus* comprenait en réalité deux espèces : l'une à grosses spores, fructifiant à la température ordinaire et inoffensive; l'autre presque de même couleur, à petites spores, végétant à 37°, très pathogène ; c'était l'*Aspergillus fumigatus* de Fresenius. Ces résultats furent confirmés par DE BARY. En 1897, LUCET [55] et RÉNON [72] publient une étude très complète de l'aspergillose expérimentale et spontanée, où ils ont condensé toutes leurs recherches antérieures. En 1900 paraît le travail de SAXER [80] sur la pneumomycose aspergillaire, avec de très intéressantes descriptions et d'excellentes figures des lésions produites par l'inoculation aux animaux. G. BARTHELAT [3] en 1903 étend aux Mucorinées la méthode expérimentale, et à la même époque Ch. MACÉ [58] fait des essais sur le Cobaye, le Pigeon, la

Tortue, la Couleuvre et la Grenouille, avec des conidies d'*Aspergillus fumigatus* et d'un *Aspergillus glaucus* qui n'est évidemment qu'une variété du précédent. Enfin en 1906, PINOY [68] réussit à obtenir un mycétome à *Sterigmatocystis nidulans* chez un Pigeon inoculé à la patte.

Dans l'étude pathogénique de nos Mucédinées thermophiles nous empruntons à tous ces expérimentateurs les procédés qu'ils ont mis en œuvre. Pour ses cultures LICHTHEIM se servait d'eau panée gélosée; nous avons essayé de remplacer le pain par l'eau de carotte, le bouillon, le Raulin normal et le Raulin neutre. Avec le Raulin acide, la gélose est hydrolysée même après simple chauffe à la vapeur fluente; parmi les autres milieux, le Raulin neutre est celui qui donne les cultures les plus vigoureuses, nous l'avons constamment employé après addition de 2 % de gélose. Cette préparation, qui supporte facilement une stérilisation à 110°, est répartie dans des fioles de Gayon (diamètre du fond = 15 centimètres) par quantités de 60^{cc} environ. Quand les cultures ont atteint leur maximum de croissance (5 à 7 jours après l'ensemencement), on verse dans le flacon 10 à 20^{cc} de sérum physiologique (chlorure de sodium : 7 gr. 5 par litre) et l'on agite vigoureusement. La solution se trouve chargée de conidies; pour la débarrasser des filaments mycéliens qui pourraient occasionner une embolie mortelle, on la filtre sur un entonnoir stérilisé dont la douille est garnie d'un tampon de coton peu serré; on la recueille dans un petit verre conique fermé par un diaphragme de papier buvard, dont on perfore le centre avec la douille de l'entonnoir. Le filtrat, qui ne contient plus en suspension que des conidies, est inoculé à l'aide d'une seringue Pravaz, soit dans le péritoine du Cobaye, soit dans la veine marginale (postéro-externe) de l'oreille du Lapin.

Avant toute opération, le poil est rasé et la place lavée

au sublimé puis à l'alcool-éther ; de même, dès que l'aiguille est retirée, on cautérise au fer rouge l'endroit de la piqûre, ce qui assure l'asepsie et arrête toute hémorragie.

Lorsque l'inoculation amène la mort de l'animal, on doit immédiatement (au plus tard quelques heures après le décès) pratiquer l'autopsie ; pour cette dernière, on se sert de ciseaux, scalpels et pinces stérilisés et l'on opère de manière à éviter toute contamination extérieure. Une parcelle de chacun des organes prélevés dans ces conditions est projetée dans des matras contenant du Raulin normal stérilisé ; l'un de ces matras reçoit une goutte de sang puisé directement dans le cœur à l'aide de la pipette protégée [41]. Si la mort est due à l'action de la Mucédinée et non à une faute opératoire, les cultures sont positives ; le sang a disséminé les conidies dans tout l'organisme, mais lui-même reste souvent stérile.

L'examen histologique fournira la preuve certaine du rôle pathogénique de la Mucédinée. Des tranches d'organe de 1 centimètre de long, 1/2 cent. de large sur 2 à 3 millimètres d'épaisseur sont fixées au moment même de l'autopsie par le sublimé acétique ou l'alcool à 95°, durcies aux alcools de plus en plus concentrés, puis incluses dans la paraffine. Le bloc de paraffine obtenu, est débité en coupes minces que l'on colle sur lame par l'albumine de Mayer ou la gélatine bichromatée.

Pour colorer les coupes après leur passage dans le picrocarmin de Orth, LUCET les plonge pendant quelques heures dans une solution aqueuse de violet de méthyle ou de violet de gentiane et en suivant la méthode de Gram-Weigert il obtient une coloration violette intense du mycélium ; RÉNON les laisse une minute à peine dans une solution de thionine phéniquée ; BARTHELAT les met pendant quatre à cinq minutes dans une solution aqueuse à 2 ‰ de bleu de toluidine (le rouge de ruthénium est recommandé

par l'auteur). Nous avons employé avec assez de succès ces colorants ; au lieu de la coloration primitive en masse par le picro-carmin, nous faisons agir directement sur la lame une solution d'hématoxyline, puis pendant quelques minutes un mélange de 3 p. alcool absolu et 1 p. solution aqueuse d'éosine à 0,5 ‰. Sur un fond rosé se détachent les noyaux violets des cellules et les filaments mycéliens apparaissent également en violet plus ou moins foncé (violet de gentiane, thionine, bleu de toluidine). On passe ensuite par les alcools forts et l'on monte finalement dans le baume de Canada.

L'examen des préparations ainsi obtenues montre nettement que l'aspergilliose se localise surtout dans le rein et le foie ; la rate et le cœur sont assez souvent atteints. De ces organes, les uns sont hypertrophiés, les autres présentent à leur surface des points blancs miliaires assez caractéristiques ; à leur intérieur, on rencontre généralement des tubercules blanchâtres *constitués par un amas de filaments mycéliens enchevêtrés, entourés de nombreux leucocytes*. Ces nodules plus ou moins volumineux ont une grande ressemblance avec les lésions de la tuberculose bacillaire. Nous nous sommes occupés de déterminer les quantités de conidies de chaque espèce qu'il fallait introduire dans l'organisme pour amener soit des accidents guérissables, soit la mort. En injectant des doses extrêmement faibles, la guérison survient en effet après quelques jours d'affaiblissement ; à doses plus fortes, la mort arrive au bout d'un temps plus ou moins long ; elle est très rapide aux doses massives que nous avons généralement employées. Comme OLSEN et GADE [64] pour l'*Aspergillus subfuscus*, nous déterminons approximativement, à l'aide d'un compte-globules, le nombre des conidies contenues dans nos émulsions.

Comment évoluent les conidies introduites dans l'organisme vivant ? D'après GRAWITZ, les spores de champi-

gnons non pathogènes, après un séjour plus ou moins longs dans le sang, s'éliminent par les urines. La plupart des auteurs que nous avons cités après lui se sont occupés de cette question ; nous ne rapporterons que les importantes et récentes observations de BODIN et SAVOURÉ [7]. Une moisissure pathogène ou non détermine, quand on l'injecte dans le péritoine d'un cobaye, une leucocytose abondante comparable à celle que l'on peut obtenir en injectant dans le péritoine des fragments d'une matière pulvérulente quelconque ; les cellules phagocytaires ne semblent pas faire de distinction entre les spores virulentes et les spores inoffensives, qu'elles englobent les unes et les autres comme des corpuscules inertes. Les conidies, qui n'ont pas de mouvement propre, sont récoltées par les leucocytes, disséminées dans tout l'organisme et viennent se loger dans les capillaires viscéraux. C'est pourquoi on peut les rencontrer 3 et 6 jours après l'inoculation dans le foie, le rein et la rate. Mais à ce moment les phénomènes varient, suivant qu'il s'agit ou non d'un champignon pathogène : dans ce dernier cas, les spores germent et produisent des altérations locales ; s'il s'agit, au contraire, d'une espèce non pathogène, elles disparaissent après un temps plus ou moins long, sans être éliminées par les émonctoires. En examinant attentivement ces faits, on constate que tout se ramène à une question de digestion intra-cellulaire. « En effet, quand on inocule un champi-
« gnon pathogène, il y a bien englobement de ses spores
« par les leucocytes, mais pour des raisons encore mys-
« térieuses tenant au fonctionnement physiologique de ces
« phagocytes ou peut-être à la structure des spores mieux
« protégées que d'autres, il n'y a pas de digestion intra-
« cellulaire de ces spores, qui demeurant intactes germent
« ultérieurement. La phagocytose est alors incomplète, car
« ce phénomène comporte nécessairement et essentielle-
« ment deux temps : l'un d'ordre physiologique, compre-

« nant l'englobement des éléments étrangers dans le pro-
« toplasme de la cellule mobile; l'autre d'ordre chimique,
« consistant en une digestion des corpuscules englobés par
« des cytases élaborées par la cellule; et avec les spores
« de champignon pathogène cette dernière partie de l'acte
« fait défaut. Dans le cas d'un champignon non pathogène,
« au contraire, les phagocytes complètent leur œuvre
« d'englobement par un acte digestif qui aboutit à la des-
« truction des spores ». « On peut dire que l'immunité
« dans les mycoses internes dépend de phénomènes de
« digestion intra-cellulaire par les phagocytes de l'orga-
« nisme parasite ». Il y aurait donc, d'après ces expéri-
mentateurs, analogie entre les aspergilloses et les maladies
microbiennes.

DEUXIÈME PARTIE.

Suivant le plan que nous nous sommes tracé, nous étudierons maintenant sept Mucédinées végétant à la température du corps. De nombreux auteurs ont fait une étude complète de l'*Aspergillus fumigatus* et nous n'avons rien à ajouter à la description si parfaite du *Sterigmatocystis nidulans* donnée par EIDAM. Ces deux moisissures à pouvoir pathogène bien connu ne trouveront place dans cette étude que comme termes de comparaison avec les espèces suivantes. Les *Sterigmatocystis nigra* et *carbonaria*, virulents pour les uns, inoffensifs pour les autres, méritaient d'être examinés aux points de vue morphologique et biologique, pour en permettre la différenciation précise d'avec certaines formes voisines, dont les conidies sont également noirâtres ou noires. Les *Sterigmatocystis lutea*, *fusca* et le *Pæcilomyces Varioti* sont des Mucédinées peu connues ; le rôle pathogène des deux premières n'était pas encore démontré. Pour chacun de ces organismes nous donnerons, après quelques mots d'historique, l'aspect général et le développement sur les différents milieux de culture, l'optimum de température, les limites d'acidité et d'alcalinité, leur action sur les matières azotées et les hydrates de carbone, les résultats obtenus dans les inoculations au Lapin et au Cobaye, et nous terminerons par une courte diagnose avec les mensurations moyennes de diverses parties de l'appareil reproducteur.

CHAPITRE PREMIER.

Aspergillus fumigatus Fresenius (pl. I, fig. 1).

L'*Aspergillus fumigatus*, découvert et décrit par FRESENIUS, est très répandu dans la nature. On rencontre ses conidies sur les céréales (blé, avoine, orge, seigle), sur les fourrages (luzerne, trèfle, sainfoin), sur les pailles les plus diverses, dans les poussières, le sol et l'atmosphère. Une répartition aussi ubiquiste doit favoriser la contamination des animaux herbivores ou granivores ; c'est à ce champignon qu'il faut attribuer la plupart des cas de mycose que nous avons rapportés. Avec le *Sterigmatocystis nigra*, il est peut-être l'espèce la mieux connue des Périsporiacées. Pour ne citer que les principaux auteurs qui l'ont étudié, nous nommerons FRESENIUS [30], SIEBENMANN [82], BEHRENS [4], EIDAM [28], BOULANGER-DAUSSE [8], PFEFFER [69], WEHMER [90], COHN [16], RÉNON, LUCET, SAXER et L. GAUTIER [31].

Si l'on observe une conidie placée en culture cellulaire, on la voit d'abord augmenter de volume (d), puis donner issue à un filament qui s'allonge, se cloisonne et se ramifie. En s'enchevêtrant entre elles, les hyphes forment un mycélium plus ou moins feutré, blanchâtre, d'où s'élèvent des rameaux fertiles. Ceux-ci de 150 à 300 μ de hauteur, d'un gris-fuligineux plus foncé vers le sommet (a), se renflent en ampoule sphéroïdale de 20 μ environ (e), couverte dans la moitié ou les deux tiers supérieurs de sté-

rigmates très serrés, également fuligineux. Ces derniers sont surmontés d'un panache de conidies (c), lisses, bronzées, sphériques, de $2\mu 5$ de diamètre moyen, facilement dissociables, tandis que les stérigmates restent fixés au renflement terminal.

Nous n'avons jamais rencontré la forme ascosporee ; elle aurait été trouvée par BEHRENS [4] sur des feuilles de tabac fermentées, et par GRIJNS [33] sur un milieu gélosé à base de saccharose et d'extrait de malt. DANGEARD [22] a vu se former des périthèces de 70 à 90 μ de diamètre dans des cultures sur pomme de terre et agar nutritif.

Aspect sur différents milieux de culture (étuve à $+22^{\circ}$).

— *Pomme de terre*.— Faible début après 24 heures. Le deuxième jour, sur un mycélium blanc-neige se dressent de nombreux filaments. La teinte azurée (375 du Code des Couleurs), due à la maturité des conidies, apparaît le troisième jour, s'étend rapidement et se fonce dans les vieilles cultures.

Pomme de terre acide.— Evolution moins rapide.

Carotte.— Même développement que sur pomme de terre.

Albumine d'œuf cuite.— La culture est peu vigoureuse. La coloration bleue du début s'atténue assez vite, elle passe au gris et au noir vers le trentième jour.

Raulin gélatiné.— Liquéfaction tardive, débutant le sixième jour, complète au vingtième. Les conidies sont noirâtres.

Bouillon gélatiné.— Après 48 heures, des filaments blanchâtres apparaissent sur la strie d'inoculation, et s'étendent en largeur et en profondeur. Toute la gélatine,

bientôt envahie, se recouvre le cinquième jour seulement de points bleuâtres. Liquéfaction très lente.

Bouillon gélosé. — Même aspect. Les conidiophores forment de petites touffes assez espacées, de couleur très foncée après un mois.

Raulin normal. — Un voile d'un blanc pur avec de petites plages bleutées se constitue dès le troisième jour. Il devient boursoufflé, à bords relevés, grimpants et à surface bleue uniforme.

Raulin neutre. — Même caractère cultural ; mycélium un peu moins plissé et à pourtour rosé.

Bouillon. — Voile toujours filamenteux et lisse ; liquide sous-jacent légèrement rose après trente jours. Comme sur gélatine et gélose, les conidies ne sont jamais abondantes.

Milieux sucrés. — D'après la vigueur et l'étendue des cultures, on peut ranger les sucres les mieux assimilés par le champignon dans l'ordre suivant : glucose, saccharose, maltose et lactose. Sur ce dernier, le voile reste uni, peu feutré, de teinte orangée à la partie inférieure.

Influence de la température. —

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Germination de quelques conidies...	222 milligr.
27°	Filaments peu cloisonnés, non ramifiés	315 —
32°	Filaments plus allongés, ramifiés...	464 —
37°	Nombreuses ramifications. Conidio- phores.....	490 —
42°	Comme à 22°.....	245 —
50°	Rien	0

Ces résultats concordent avec ceux déjà connus. C'est, en effet, à 37-38° que l'*Aspergillus fumigatus* pousse le mieux. RÉNON a vu des conidies résister pendant 10 minutes à 60°, et n'être tuées qu'après un séjour de 5 heures 1/2 à cette température. LUCET a obtenu le développement de conidies conservées plusieurs mois dans un bloc de glace.

Dans les cultures soumises à « une haute température, si peu touffues qu'elles soient, les conidies apparaissent « jusqu'aux extrêmes limites de végétabilité du champignon ». Aux basses températures, au contraire, « la « production des organes fructifères cesse bien avant que « le développement du mycélium soit arrêté » (LUCET).

Influence des acides. — (t. + 37°)

ACIDES	JOURS	TUBES						
		1 (témoin)	2 (IV gtt.)	3 (VIII gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV gtt.) etc.
Chlorhydrique et sulfurique.	1	+	+					
	2	+	+	+				
	3	+	+	+	+			
								
	15	+	+	+	+			
Azotique.	1	+	+	+				
	2	+	+	+				
	3	+	+	+	+			
								
	15	+	+	+	+			
Oxalique.	1	+	+	+				
	2	+	+	+				
	3	+	+	+	+	+		
	4	+	+	+	+	+	+	
								
	15	+	+	+	+	+	+	

(1) Le signe + indique les tubes où l'on remarque le développement des champignons.

Pour l'acide chlorhydrique le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{41,83 - 32,15}{16 \times 0,001825} = 331,5$$

Pour l'acide sulfurique le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{36,73 - 27,1}{16 \times 0,00245} = 245,6$$

Pour l'acide azotique le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{28,36 - 18,71}{16 \times 0,00315} = 191,4$$

Pour l'acide oxalique le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{30,6 - 21,1}{24 \times 0,00315} = 126,9$$

Influence des alcalis. —

	JOURS	TUBES						
		1 (témoin)	2 (II gtt.)	3 (IV gtt.)	4 (VI gtt.)	5 (VIII gtt.)	6 (X gtt.)	7 (XII gtt.) etc.
Potasse.	1	+						
	2	+						
	3	+	+					
	...	...	...	...	...	...	...	...
	6	+	+	+				
	7	+	+	+				
	8	+	+	+	+			
	...	...	...	...	...	...	...	...
Soude.	15	+	+	+	+	+		
	1	+						
	2	+						
	3	+						
	4	+	+					
	5	+	+					
	6	+	+	+				
	7	+	+	+				
	8	+	+	+	+			
	...	...	...	...	...	...	...	...
	12	+	+	+	+	+		
	...	...	...	...	...	...	...	...
	15	+	+	+	+	+	+	

Pour la potasse, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{34,65 - 25}{10 \times 0,0028} = 344,6$$

Pour la soude, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{33,5 - 23,8}{12 \times 0,002} = 404,1$$

Action sur les composés azotés. — *Albumine d'œuf cuite.*— L'*Aspergillus* y forme dès le troisième jour une petite tache bleutée qui s'accroît et passe au noir dans les vieilles cultures. Le milieu ne subit aucune liquéfaction.

Lait saturé de craie.— Un voile recouvre bientôt toute la surface. Le lait devient jaunâtre et transparent ; le vingtième jour, il est transformé en un liquide un peu visqueux et opalescent.

Caséine.— Le cube se délite en donnant un liquide trouble.

Action sur les hydrates de carbone.— (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution de ferments).

Saccharose.— Il y a interversion et la solution renferme par litre 19 gr. 6 (en glucose) de sucre réducteur.

Maltose.— L'augmentation du pouvoir réducteur et une déviation inférieure de 1° 46' au polarimètre indiquent le dédoublement de ce sucre.

Lactose.— Aucun changement ; avec la phénylhydrazine, uniquement formation de lactosazone.

Glucose.— Pas de production d'alcool, non plus que dans les cultures.

Empois d'amidon.— La gelée se liquéfie peu à peu, mais la liqueur obtenue reste toujours trouble ; elle contient après six jours 16 gr. 2 (en glucose) de sucre réducteur par litre.

Pouvoir pathogène.— L'*Aspergillus fumigatus*, comme nous l'avons vu, peut provoquer des affections virulentes et mortelles chez les sujets qui se nourrissent d'aliments végétaux, à la surface desquels on rencontre très souvent les conidies de ce champignon. Il peut déterminer chez l'Homme une pseudo-tuberculose assez fréquente chez les gaveurs de pigeons et les peigneurs de cheveux, d'après de nombreuses observations de RÉNON. Pour amener des désordres graves, il est nécessaire que les conidies pénètrent en grande quantité dans les voies pulmonaires, et cette raison explique les limites restreintes de son champ d'action. Il est facile cependant de montrer par l'inoculation que l'*Aspergillus fumigatus* a un pouvoir pathogène bien marqué. Nous ne reviendrons pas ici sur les lésions expérimentales que décèlent l'autopsie et l'étude histologique ; nous renvoyons pour cette partie aux mémoires que nous avons cités.

Le Lapin et le Cobaye contractent facilement la maladie. Le Chien et le Mouton y paraissent réfractaires (LUCET). Le Singe se montre très sensible à la contamination aspergillienne (DIEULAFOY, CHANTEMESSE et WIDAL). Les Oiseaux paraissent en général plus réceptifs que les Mammifères, et parmi eux, le Pigeon occupe à cet égard la première place. S'il est facile de provoquer l'aspergillose chez les animaux, longue à obtenir est la guérison des sujets atteints de cette maladie. Un traitement à base d'iode et d'arsenic produit une amélioration sensible ; mais aujourd'hui, dans la pensée que l'action pathogène était due à des toxines, on a cherché à remplacer par des sérums ces substances médicamenteuses. L'*Aspergillus fumigatus* introduit dans l'organisme agirait, non par le traumatisme occasionné dans les viscères où il se développe, mais par les poisons renfermés dans son protoplasme (endotoxines) ou excrétés au dehors (toxines ou agressines). KOTLIAR [50], en injectant à des Pigeons le liquide résiduel

d'une culture d'*Aspergillus fumigatus*, n'obtint la mort d'aucun de ces Colombins. Il en conclut que « d'une façon générale l'*Aspergillus fumigatus* ne forme pas de toxine « dans les milieux où on le cultive ordinairement. » « Or ce « fait n'est pas une preuve suffisante pour une telle affirmation. Si sensible, en effet, que soit le Pigeon à « l'action de l'*Aspergillus fumigatus*, il se peut que les « toxines auxquelles donne naissance la culture de cette « Mucédinée soient insuffisantes, à elles seules, pour « provoquer la mort d'un de ces Oiseaux à qui on les « injecte et que cependant elles existent et soient capables de déterminer un malaise passager, accusé seulement par des variations thermométriques ». LUCET démontre son assertion, en injectant dans le torrent circulatoire d'un Lapin, 4 cc. d'un liquide soutiré d'une vigoureuse culture à 37°, et filtré sur porcelaine. La température rectale de 38°7 atteint progressivement, après huit heures, 40°6, pour redescendre ensuite ; d'autres essais furent aussi concluants. RÉNON ne trouve « pas « plus de toxines intra-cellulaires que de toxines extra-cellulaires ; ou du moins s'il existe des produits toxiques « dans le mycélium, ceux-ci sont aussi incapables de tuer « les animaux que de les prémunir contre une nouvelle « inoculation ». CARLO CENI et CARLO BESTA [14] retirent de l'*Aspergillus fumigatus* et de l'*Aspergillus flavescens* une toxine qui détermine chez les sujets d'expérience les mêmes symptômes que l'injection des conidies elles-mêmes ; mais le mode d'extraction qu'ils emploient porte à croire qu'il s'agit là non d'un albuminoïde mais d'un principe chimique d'ailleurs non déterminé. BODIN et L. GAUTIER [6] observent des phénomènes convulsifs, tétaniques et paralytiques après l'inoculation intra-veineuse ou sous-cutanée du liquide nutritif laissé au contact du mycélium pendant plusieurs jours. Dans des cultures analogues, OTTO [65] ne rencontre aucune toxine, mais

en traitant par l'alcool deux races italiennes d'*Aspergillus fumigatus*, il obtient deux extraits souvent mortels pour le Lapin et le Cobaye à la suite d'ingestion ou d'inoculation intra-péritonéale.

Que conclure de toutes ces assertions contradictoires, si ce n'est qu'avant de parler d'immunité, il faut savoir si le champignon sécrète réellement des toxines, susceptibles après atténuation de faire naître dans l'organisme de nouveaux éléments de défense analogues aux stimulines de METSCHNIKOFF ou aux opsonines de WRIGHT ?

Caractéristiques de l'*Aspergillus fumigatus* Fresenius.

Couleur des cultures sur Raulin : 373 C. des C. au quatrième jour.

Mensurations (en μ) :

Conidie	2,3 à 2,7
— germant.....	6,3 à 7
Stérigmate (longueur).....	7,3 à 7,8
— (diamètre).....	2 à 2,5
Conidiophore (hauteur).....	150 à 300
— (diam. moyen du pied)	4,7
— (diam. moyen de la tête)	20
— (diam. des filam.myc.).	2 à 3

Optimum de croissance : 37°-38°.

Pouvoir inhibitoire : Acide chlorhydrique, 331. Acide azotique, 191. Acide sulfurique, 245. Acide oxalique, 126. Potasse, 344. Soude, 404.

Ferments sécrétés : Caséase, invertine, maltase et amylase.

Pathogène : pour le Lapin et le Cobaye.

CHAPITRE II.

Sterigmatocystis nidulans Eidam (pl. I, fig. 2).

Cette moisissure décrite par EIDAM [28] qui la trouva, au jardin botanique de Breslau, dans des nids de Bourdons, forme un mycélium blanchâtre, d'où s'élèvent des conidiophores simples, bi ou tri-furqués de 40 à 150 μ de long, de teinte brune uniforme (a), s'étendant parfois à la cellule basale ; leur extrémité légèrement renflée est recouverte dans sa moitié supérieure de basides cylindro-coniques couronnées d'un à quatre stérigmates en forme de massue renversée (e). Les conidies sphériques, finement ponctuées, d'un jaune-vert, de 3 μ de diamètre (c), forment un panache légèrement étalé. La reproduction ascosporee, très fréquente, se montre sous forme de petites granulations jaunâtres ; au milieu d'hyphes vésiculeuses (s) se trouve un périthèce arrondi de 200 à 300 μ , renfermant à l'intérieur des asques ovoïdes (f) qui ne se développent pas tous ensemble, mais mûrissent successivement. Chacun des asques renferme huit ascospores lenticulaires, bi-convexes, aplaties, lisses, de couleur pourpre, de 4 à 4 μ , 5 (h).

Aspect sur différents milieux de culture (étuve à + 22°).

— *Pomme de terre*. — Les filaments mycéliens forment après 48 heures une tache blanchâtre qui s'étend rapide-

ment, et se teinte de vert et de rose. Le mycélium recouvre tout le substratum au dixième jour ; il possède des appareils conidiens de couleur verte (328 C. des C.) et des périthèces rouge-orange ; ces derniers envahissent toute la surface, et lui donnent un aspect granuleux. Le trentième jour, comme dans les vieilles cultures, il se développe de longs filaments très blancs, peu cloisonnés et peu ramifiés.

Pomme de terre acide. — Idem.

Carotte. — Même début que sur Pomme de terre, mais la teinte verte plus uniforme recouvre tout le milieu. Le dixième jour, apparaissent les sclérotés fertiles dont le nombre s'accroît dans la suite, et le vingtième jour, en écrasant les périthèces sous le microscope, on trouve des ascospores et des asques non arrivés à maturité.

Albumine d'œuf coagulée. — Le Stérigmatocystis y végétant assez bien, la recouvre le septième jour de ses appareils conidiens.

Raulin gélatiné. — Après un mois, une petite quantité seulement de gélatine est devenue sirupeuse ; la masse a pris une teinte rougeâtre.

Bouillon gélatiné. — Le cinquième jour, toute la surface est parsemée de points verts assez espacés. Après une semaine apparaît un début de liquéfaction. Le trentième jour, la gélatine n'est qu'en partie transformée en un liquide orangé et sirupeux.

Bouillon gélifié. — Comme sur gélatine, la culture est peu abondante et ne donne pas de périthèces.

Raulin acide. — Le deuxième jour, se constitue un îlot blanchâtre qui passe au bleu, puis au vert. La face infé-

rieure devient plus tard orangée, tandis que sa surface boursouflée disparaît sous de longs filaments blanchâtre.

Raulin neutre. — Comme sur le précédent, il se forme un voile avec des appareils conidiens, puis sur ce support solide naissent des périthèces vers le quinzième jour. L'aspect est le même avec le Raulin acide ou neutre, mais ce dernier prend dans la suite une coloration noire-rougeâtre.

Bouillon. — Ainsi que sur gélatine et gélose l'accroissement est très lent et le voile reste toujours uni, filamenteux, recouvert seulement de conidies.

Milieux sucrés. — Avec le saccharose, le glucose et le maltose, développement à peu près identique ; plus tardif avec le lactose.

Influence de la température.—

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Quelques conidies germent	102 milligr.
27°	Filaments courts, cloisonnés	140 —
32°	Filaments ramifiés	238 —
37°	Filaments plus allongés, très ramifiés	378 —
42°	Même aspect qu'à 27°	52 —
50°	Rien	0 —

L'optimum cultural est, d'après EIDAM, voisin de 40°.

Influence des acides (t. + 37°). —

ACIDES	JOURS	TUBES					
		1 (témoin)	2 (IV gtt)	3 (VIII gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.) etc
Chlorhydrique sulfurique et azotique.	1	+	+	+			
	...						
	15	+	+	+			
Oxalique.	1	+	+	+			
	2	+	+	+	+	+	
	...						
	15	+	+	+	+	+	

Pour l'acide chlorhydrique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{34,95 - 25,31}{12 \times 0,001825} = 440$$

Pour l'acide sulfurique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{30,58 - 21}{12 \times 0,00245} = 329,2$$

Pour l'acide azotique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{31,12 - 21,48}{12 \times 0,00315} = 255$$

Pour l'acide oxalique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{32,56 - 22,9}{20 \times 0,00315} = 153,3$$

Influence des alcalis. —

	JOURS	TUBES					
		1 (témoin)	2 (II gtt)	3 (IV gtt.)	4 (VI gtt.)	5 (VIII gtt.)	6 (X gtt) etc
Potasse et soude.	1	+					
	2	+					
	3	+	+				
	4	+	+				
	5	+	+	+			
	6	+	+	+	+		
	...						
	9	+	+	+	+	+	
	...						
	15	+	+	+	+	+	

Pour la potasse le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{35,2 - 25,5}{10 \times 0,0028} = 346,4$$

Pour la soude le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{29,5 - 19,82}{10 \times 0,002} = 484$$

Action sur les composés azotés. — *Albumine d'œuf cuite.* — Le quinzième jour, l'albumine devient un peu transparente sur les bords. Sous la culture assez prospère, on trouve, après un mois, un liquide visqueux donnant la réaction du biuret.

Lait saturé de craie. — Le champignon cultive sur ce milieu, mais sans y apporter de changement sensible. Après vingt jours, le lait est devenu un peu transparent ; jamais on n'y observe de flocons de caséine.

Caséine. — Le cube se transforme très lentement en un liquide opalescent.

Action sur les hydrates de carbone (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution des ferments).

Saccharose. — Il y a interversion et 13 gr. 9 (en glucose) de sucre réducteur produit par litre.

Maltose et Lactose. — Aucun changement.

Glucose. — Pas d'alcool formé.

Empois d'amidon. — La gelée ne subit aucune modification. Cependant, dans les cultures directes, on la voit lentement devenir pâteuse ; mais jamais elle ne donne un liquide limpide et clair.

Pouvoir pathogène. — Le *Sterigmatocystis nidulans*, injecté par EIDAM dans la veine jugulaire du Lapin, en

détermina la mort après quelques jours. LINDT (1886) [54] a échoué en opérant avec les ascospores, mais HEIDER (1890) [43], malgré les difficultés de l'expérience, a réussi à préparer une émulsion presque pure ne contenant qu'une conidie sur 115 ascospores ; les animaux inoculés avec cette préparation mouraient aussi rapidement et avec les mêmes lésions que ceux qui avaient reçu des conidies. SIEBENMANN [83] signale deux cas d'otomycose dus au *Sterigmatocystis nidulans*, et rapporte à cette même Mucédinée le champignon décrit sous le nom d'*Otomyces purpureus* par WREDEN et SWAN BENNETT. C'est encore à cette même espèce qu'appartient probablement le *Sterigmatocystis versicolor* décrit par Mlle MIRSKY (1903) qui le trouva dans des crachats d'une tuberculeuse. Ch. NICOLLE et PINOY [62] ont isolé d'un mycétome et obtenu en culture pure une variété *Nicollei*, d'*Aspergillus nidulans* ; dans l'étude de ces affections purulentes, ils ont observé que « les champignons saprophytes, qui deviennent parasites, « peuvent donner leurs formes de fructification même normales à l'intérieur des tissus de l'homme et vraisemblablement aussi des animaux supérieurs ». Tous les auteurs, jusqu'à ce jour, considéraient les champignons pathogènes comme incapables de fructifier à l'intérieur des tissus animaux.

Caractéristiques du *Sterigmatocystis nidulans* Eidam.

Couleur des cultures sur Raulin : 327 C. des C. au quatrième jour.

Dimensions (en μ):

Conidie.....	3
— germant.....	3 à 3,9
Baside (longueur).....	5,2 à 7,5
— (diam. moyen).....	2,5
Stérigmate (longueur).....	7 à 7,3
— (diamètre).....	2 à 2,3

Largeur des filaments mycéliens.	2	à	4
Conidiophore (hauteur)	40	à	150
— (diam. moyen du pied)...			3,6
— (diam. de la tête).....	7	à	11
Asques (dimensions moyennes)...	9	×	10
Ascospores	4	à	4,5
Périthèce	200	à	300
Hyphes vésiculeuses (diamètre)...	6	à	15

Optimum de croissance : 37°—40°.

Pouvoir inhibitoire — Acide chlorhydrique : 440. Acide azotique : 255. Acide sulfurique : 329. Acide oxalique : 153. Potasse : 346. Soude : 484.

Ferments sécrétés. — Trypsine, caséase, invertine, amylase (en très faible quantité).

Pathogène : pour le Lapin.

CHAPITRE III.

Sterigmatocystis nigra Van Tieghem (pl. I, fig. 3).

En 1867, VAN TIEGHEM [87] vit apparaître sur des dissolutions de tannin abandonnées à l'air, et dans lesquelles il se formait de l'acide gallique, une moisissure qu'il appela *Aspergillus niger*, mais qu'il reconnut dix ans plus tard pour un *Sterigmatocystis* [88]. Ce champignon, revu par BAINIER [1] en 1880, est la Mucédinée dont l'étude biologique est la plus complète ; rappelons seulement que RAULIN, en étudiant la nutrition de cette moisissure, fut amené à déterminer la composition de son célèbre milieu nutritif.

Ce *Sterigmatocystis* forme un mycélium feutré, d'aspect blanchâtre, d'où s'élèvent des hyphes continues, à membrane épaisse, parfois légèrement brunâtres à la partie supérieure (a). Ces conidiophores, hauts de 600 jusqu'à 1800 μ , se renflent à leur extrémité en boule de 30 à 60 μ de diamètre, recouverte sur toute sa surface de basides rayonnantes, en forme de massue renversée (e). Ces basides extrêmement serrées, de 30 à 70 μ de long sur 12 à 16 μ de large, portent chacune d'ordinaire quatre stérigmates ovoïdes, de 8 à 10 μ , terminés par une file de conidies sphériques, verruqueuses, de 3,5 μ de diamètre moyen (c). Celles-ci, d'abord d'un jaune-citron, passent rapidement au brun-chocolat de plus en plus foncé et quelquefois au noir.

Si on examine à un fort grossissement une jeune culture cellulaire fixée soit à l'alcool absolu, soit au sublimé acétique, soit au picroformol, soit au liquide de Perenyi ou de Flemming, et montée dans la glycérine, on voit le sommet du stérigmate s'étirer en un tube qui renferme une file de sphérules, pourvues d'une membrane lisse (k). A mesure que le nombre et le diamètre de ces corpuscules augmentent, le tube s'allonge, s'étrangle de plus en plus entre les sphères successives, et bientôt s'accolle sur celles-ci en s'échinulant. DE SEYNES, en 1886 [24], a le premier signalé un phénomène analogue dans l'*Aspergillus candidus* et le *Penicillium crustaceum*. GUÉGUEN a confirmé ces observations pour le *Penicillium*, et a vu se former de semblables conidies endogènes dans son *Gliomastix chartarum* (1905) [39].

En montant simplement des conidies mûres dans une goutte d'eau, et en pratiquant sur la lamelle placée sous un compresseur un mouvement de va-et-vient, on peut encore apercevoir la membrane lisse, à peu près incolore des conidies, dont quelques-unes ne sont pas complètement séparées de la paroi enveloppante, mince et brunâtre, qui a été déchirée par le frottement.

Nous n'avons pas rencontré de sclérotés. Lorsqu'ils existent, « ils sont globuleux, tuberculeux ou cylindriques, de dimensions très variables (500 à 1500 μ), jaunes-bruns avec une teinte rougeâtre, entourés, quand ils sont intacts, d'une enveloppe blanchâtre, formée d'un « lacs de filaments » (GEDOELST).

Aspect sur différents milieux de culture (étuve à 22°). — *Pomme de terre*. — Les conidies ont germé après 24 heures, et le deuxième jour on aperçoit un mycélium blanc, qui se recouvre de conidiophores. Ces derniers passent au jaune et finalement au brun-noirâtre (85 C. des C.). Le huitième jour, les appareils fructifères recouvrent toute la surface de la pomme de terre.

Pomme de terre acide.— Même développement.

Carotte.— Le mycélium est après 48 heures plus étendu que sur le milieu précédent, mais l'évolution et la teinte en sont identiques. Après un mois, la carotte se trouve aplatie et ratatinée.

Albumine d'œuf cuite.— Le quatrième jour, on remarque une petite tache jaune-serin, d'où s'élèvent des conidiophores à tête noirâtre. La coloration s'étend en surface et en profondeur et les appareils conidiens sont toujours limités à cette zone colorée. La teinte jaune, maxima le douzième jour, disparaît ensuite progressivement.

Raulin neutre gélatiné.— Fructifications noires apparentes le quatrième jour. La liquéfaction, partielle le sixième jour, est totale au septième. Raulin d'abord incolore, jaune après un mois.

Bouillon gélatiné.— Sur la strie d'inoculation s'observe, le deuxième jour, une trainée jaune-verdâtre le long de laquelle prennent naissance les conidiophores. Début de liquéfaction le quatrième jour; bientôt tout est transformé en un liquide clair et transparent.

Bouillon gélosé.— Même aspect que sur gélatine. Reflets verdâtres aux endroits où se forment de jeunes conidiophores, disparaissant en même temps que le nombre de conidies augmente.

Raulin normal.— A la surface, après 24 heures, filaments blanchâtres formant ensuite par leur enchevêtrement une membrane continue très chagrinée. De teinte noir foncé à sa face supérieure, le voile épais noircit en vieillissant sur la partie en contact avec le Raulin.

Raulin neutre.— Culture moins vigoureuse et moins boursouflée que sur Raulin normal.

Bouillon. — Le deuxième jour, voile mince, lisse, à reflets jaunes verdâtres. La teinte disparaît avec le développement des organes reproducteurs, mais le voile reste toujours légèrement feutré, à surface plane. Plus tard, de longs filaments cloisonnés et ramifiés, contenant de nombreux globules arrondis ou ovales, plongent profondément dans le milieu liquide.

Milieux sucrés. — Avec le glucose et le maltose, l'aspect est identique à celui décrit sur Raulin acide ; avec le lactose, mêmes caractères que sur bouillon.

Influence de la température.

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin.	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Courts filaments unicellulaires.....	370 milligr.
27°	Filaments peu cloisonnés.....	466 —
32°	Filaments cloisonnés et ramifiés.....	474 —
37°	Filaments légèrement plus allongés.	482 —
42°	Les conidies augmentent de volume ; quelques-unes germent.....	Traces
50°	Rien	0

L'examen microscopique montre peu de différence entre les cultures à 32° et 37°, et les poids de mycélium sont les mêmes à quelques milligrammes près ; nous avons donc, comme vérification, effectué de nouvelles cultures, qui, pesées après 3 jours, nous donnent :

à 22°	Poids du mycélium	102 milligrammes.
27°	—	230 —
32°	—	422 —
37°	—	448 —

Nous voyons que l'optimum de croissance du *Sterigmatozystis nigra* est compris entre 32° et 37° ; il se trouve d'après RAULIN à 34°.

Influence des acides (t. + 37°). —

ACIDES	JOURS	TUBES							
		1 (témoin)	2 (IV gtt.)	3 (VIII gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV g.)	8 (XXVIII gtt.)
Chlorhydrique	1	+	+	+	+				
	2	+	+	+	+	+			
	3	+	+	+	+	+			
	4	+	+	+	+	+	+		
	7	+	+	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	+	+	
Azotique.	1	+	+	+	+				
	2	+	+	+	+	+			
	15	+	+	+	+	+			

Pouvoir inhibitoire de l'acide chlorhydrique :

$$\frac{28,76 - 19,11}{28 \times 0,001825} = 188,8$$

Pouvoir inhibitoire de l'acide azotique :

$$\frac{32,43 - 22,75}{20 \times 0,00315} = 153,6$$

L'influence fâcheuse de l'acide azotique, même à l'état d'azotate d'ammoniaque, a été constatée en 1896 par TANRET [85]. Dans un milieu contenant 0 gr. 75 de ce sel au lieu de 0 gr. 25 $\frac{0}{0}$, cet auteur a vu les conidies de l'*Aspergillus* produire à 30°-40° un mycélium qui ne fructifie pas ou à peine et reste blanchâtre, si toutes les 24 heures on a soin de remplacer par du liquide neuf celui qui vient de s'épuiser. Cette dose supplémentaire d'azotate représente 3,93 d'acide par litre ; l'expérience montre donc, qu'un acide saturé par un alcali, agit encore sur la croissance de la plante par la nature de sa molécule.

	JOURS	TUBES						
		5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV gtt.)	8 (LXXX g.)	9 (XXXII g.)	10 (XXXVI)	11 (XXXX gtt.) etc
Acide sulfurique.	1	+						
	2	+	+	+				
	3	+	+	+	+			
	4	+	+	+	+	+		
	5	+	+	+	+	+		
	6	+	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	+	

Pouvoir inhibitoire de l'acide sulfurique :

$$\frac{37,14 - 26,56}{40 \times 0,00245} = 107,9$$

Les doses d'acide oxalique capables d'arrêter le développement du *Sterigmatocystis* sont très élevées. Avec 36 gouttes, les filaments mycéliens apparaissent comme dans le tube-témoin, après 24 heures ; 72 gouttes retardent la culture de quelques jours et 76 gouttes produisent l'inhibition.

Pour l'acide oxalique, le pouvoir inhibitoire :

$$\frac{39,86 - 28,69}{76 \times 0,00315} = 46,6$$

Influence des alcalis. —

	JOURS	TUBES			
		1 (témoin)	2 (I gtt.)	3 (II gtt.)	4 (III gouttes) etc.
Potasse.	1	+			
	2	+			
	3	+	+		
	8	+	+	+	
	15	+	+	+	
Soude.	1	+			
	2	+	+		
	7	+	+	+	
	15	+	+	+	

Pouvoir inhibitoire de la potasse :

$$\frac{33,15 - 23,6}{3 \times 0,0028} = 1136,9$$

Pouvoir inhibitoire de la soude :

$$\frac{32,4 - 22,86}{3 \times 0,002} = 1590$$

Action sur les composés azotés. — *Albumine d'œuf cuite.* — Le dixième jour de la culture, l'albumine commence à se fendiller. Les arêtes vives disparaissent et, après un mois, des fragments à bords arrondis flottent dans 2 à 3 cc. d'un liquide jaune et transparent, donnant la réaction du biuret.

Lait saturé de craie. — Le dixième jour, apparaissent de légers flocons de caséine, et le vingtième jour tout est transformé en un liquide jaune et transparent, mais légèrement trouble.

Caséine. — Peptonification rapide.

Action sur les hydrates de carbone (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution des ferments).

Saccharose. — La solution est devenue nettement lévogyre et la plus grande partie du sucre est intervertie.

Maltose. — Une diminution de 3° 54 à la déviation polarimétrique et une augmentation du pouvoir réducteur nous indiquent la formation de glucose.

Lactose et Glucose. — Aucun changement.

Empois d'amidon. — Liquéfaction rapide de l'empois qui est en partie remplacé, après 6 jours, par un liquide clair, noirâtre, contenant 29 gr. 44 (en glucose) de sucre réducteur par litre.

Tous ces enzyîmes, avons-nous déjà dit, ont été retirés de ce même *Sterigmatocystis* par DUCLAUX et par BOURQUELOT; par un procédé différent, JUNITZKY a pu obtenir un zymase alcoolique que par notre méthode nous n'avons pu constater.

Pouvoir pathogène [79]. — Le *Sterigmatocystis nigra* fut signalé pour la première fois, comme parasite, par CRAMER (1869) qui le trouva dans l'oreille d'un sourd. FÜRBRINGER l'observa dans les bronches d'un Homme et OËSEN (1886) sur des plaies pansées à l'ouate de tourbe. C'est à cette même Mucédinée que SIEBENMANN rattache l'*Aspergillus nigricans*, rencontré par WREDEN (1874) dans une otomycose et retrouvé plus tard par GOODALL (1892) dans une otite du Cheval. Lesage (1902) [52], en insufflant des conidies dans la trachée de quelques Pigeons, vit peu après se développer des filaments mycéliens. Le *Sterigmatocystis pseudo-nigra*, observé par LUCET et COSTANTIN (1903) [17] chez un Cheval atteint de teigne d'été, est une de ces nombreuses variétés de *Sterigmatocystis* à conidies noires, qui peuvent présenter entre eux des caractères différents.

Le *Sterigmatocystis nigra*, très commun comme parasite des cavités naturelles, n'a pas expérimentalement un pouvoir pathogène bien marqué. KAUFMANN (1882) [49] a établi son innocuité. RÉNON arrive aux mêmes conclusions, et note seulement un léger amaigrissement chez des Lapins, qui ont reçu dans les veines une abondante injection de conidies. CARLO CENI et CARLO BESTA (1905) [15] dans leur étude sur la pellagre, pratiquent sur des Rongeurs des inoculations intra-péritonéales avec des émulsions de conidies ou des extraits obtenus en traitant les cultures par l'eau ou l'alcool; ils obtiennent dans les deux cas des troubles vagues de dépression et d'amaigrissement. Les expériences suivantes nous ont conduit aux mêmes résultats :

Un premier Lapin de 2422 grammes a été inoculé avec 2 cc. d'une émulsion de conidies (49 millions environ par cc.).

Poids le deuxième jour.....	2318 grammes	
— troisième jour.....	2190	—
— quatrième jour.....	2187	—
— cinquième jour.....	2214	—
— sixième jour.....	2277	—
— septième jour.....	2300	—

A partir de ce moment, l'animal reprend vite son appétit ordinaire et son poids primitif.

Un deuxième Lapin de 2030 grammes et d'une grande maigreux a reçu 4 cc. de la même émulsion :

Poids le deuxième jour.....	1838 grammes	
— troisième jour.....	1746	—
— quatrième jour.....	1715	—
— cinquième jour.....	1703	—
— sixième jour.....	1693	—
— septième jour.....	1508	—
— huitième jour.....	1448	—

Il meurt dans un état d'affaiblissement extrême avec dysenterie intense. A l'autopsie, le foie et les reins sont normaux, parsemés de points blancs ; les poumons granuleux, cachectiques, les bords des lobes inférieurs sont hyperhémisés ; le cœur hypertrophié et scléreux à sa pointe. A l'examen histologique, quelques conidies dans le foie et les reins, sans filaments mycéliens.

Un troisième essai identique au précédent (58 millions de conidies par cc.), tenté sur un lapin de 2280 grammes a donné les résultats suivants :

Poids le deuxième jour....	2092 grammes.	
— troisième jour.....	1910	—
— quatrième jour....	1817	—
— cinquième jour....	1730	—
— sixième jour.....	1642	—
— septième jour....	1580	—

L'animal, allongé sur le flanc et très abattu, est sacrifié et autopsié. Les reins présentent des granulations blanches nombreuses ; le foie est normal ; les poumons petits, cachectisés ; le cœur n'offre aucune résistance au toucher.

On trouve à l'examen histologique quelques conidies non germées, dans les reins et le foie.

Le liquide de Raulinensemencé avec des morceaux de chacun de ces organes reproduit des cultures pures de *Sterigmatocystis nigra* ; seul, celui qui a reçu le sang du cœur, demeure stérile.

Ces résultats ne nous permettent pas d'être affirmatif sur le pouvoir pathogène de la Mucédinée ; les grandes quantités de conidies injectées doivent probablement nécessiter un travail phagocytaire considérable, qui prive l'organisme de toute résistance ; à des doses plus faibles on concluerait négativement.

Caractéristiques du *Sterigmatocystis nigra* VAN TIEGHEM.

Couleur des cultures sur Raulin : 60 C. des C. au quatrième jour.

Dimensions (en μ) :

Conidie	3,1 à 3,6
— germant.....	8,6 à 9,4
Baside (longueur).....	30 à 70
— (diamètre).....	12 à 16
Diamètre des filaments mycéliens.....	3 à 5
Sterigmate (longueur).....	8 à 10
— (diamètre moyen).....	4
Conidiophore (hauteur).....	600 à 1800
— (diamètre moyen du pied).....	8
— (diamètre de la tête).....	30 à 60

Optimum de croissance : 34°.

Pouvoir inhibitoire : Acide chlorhydrique, 188. Acide

azotique, 153. Acide sulfurique, 107. Acide oxalique, 46.
Potasse, 1136. Soude, 1590.

Ferments sécrétés : Trypsine, présure (faible quantité),
caséase, invertine, maltase et amylase.

Non pathogène pour le Lapin.

CHAPITRE IV.

Sterigmatocystis carbonaria Bainier (pl. 1, fig. 4).

Cette Mucédinée décrite par BAINIER [1], qui l'a vu apparaître sur des queues de cerises fraîches, placées dans des conditions convenables de température et d'humidité, forme un mycélium blanc, feutré, sur lequel sont implantés des conidiophores à membrane épaisse, atteignant jusqu'à trois millimètres de hauteur (a). Le sommet de ceux-ci, renflé en sphère de 35 à 70 μ , se recouvre de basides (e) surmontées généralement de quatre stérigmates ovoïdes de 10 μ sur 6 μ de large. Les conidies, plus grosses que celles des espèces précédentes, sont sphériques, de 7 à 8 μ de diamètre, brunâtres, recouvertes d'aspérités assez saillantes (c). Comme pour le *Sterigmatocystis nigra*, nous avons observé leur formation nettement endogène (k).

Aspect sur différents milieux de culture (étuve à 22°). — *Pomme de terre*. — Filaments mycéliens blanchâtres après 24 heures et le deuxième jour naissent les appareils conidiens. Toute la surface du substratum est, dès le quatrième jour, recouverte d'une teinte noire sanguine (85 C. des C.), qui est encore bien conservée après un mois.

Pomme de terre. acide. — Coloration moins rougeâtre.

Carotte. — Elle est rapidement envahie par un mycélium blanc de neige, qui se recouvre ensuite de conidiophores. La carotte se ratatine et le liquide contenu à la partie inférieure du tube de Roux devient d'un jaune de chlore.

Albumine d'œuf cuite. — Vers le douzième jour seulement, toute la surface se trouve envahie par le champignon dont les conidies sont noir-verdâtre. Basides et stérigmates présentent souvent des déformations.

Raulin neutre gélatiné. — Une tache noire apparaît le troisième jour, elle s'étend rapidement et le sixième jour recouvre tout le milieu qui est complètement liquéfié. Celui-ci est légèrement teinté de jaune.

Bouillon gélatiné. — Sur la strie d'inoculation, on voit après 48 heures de petits conidiophores noirâtres dont le nombre augmente très lentement. Il n'y a jamais liquéfaction.

Bouillon gélosé. — Les organes fructifères restent toujours très espacés et par petits groupes, comme sur gélatine.

Raulin acide. — Quelques filaments flottent à la surface après 24 heures. Ils forment bientôt un voile mince, plissé, blanchâtre, qui se boursoufle par la suite. Les conidies sont noires et le Raulin d'un jaune de chlore.

Raulin neutre. — L'accroissement est plus lent, mais l'aspect est semblable à celui de la culture précédente.

Bouillon. — Le voile reste toujours très mince, lisse, filamenteux. Les hyphes fructifères sont assez espacées et le dépôt abondant.

Milieux sucrés. — Avec le glucose et le maltose, l'aspect est le même que sur Raulin normal. Avec le lactose, le voile reste toujours uni, d'un blanc sale à la partie inférieure, et le Raulin n'est jamais coloré.

Influence de la température. —

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Filaments mycéliens très courts....	188 milligr.
27°	Filaments ramifiés et cloisonnés....	294 —
32°	Filaments très allongés. Début de conidiophore.....	304 —
37°	Filaments comme à 27°. Début de conidiophore.	112 —
42°	Aucune germination.....	0 —
50°	Idem.	0 —

Dans une seconde expérience, arrêtée après trois jours de culture, nous avons obtenu :

à 27°, poids du mycélium.....	160 milligr.
à 32°, —	182 —
à 37°, —	68 —

Entre toutes, la température de 32° semble la plus favorable au développement du *Sterigmatocystis carbonaria*.

Influence des acides. — (t. + 37°).

ACIDES	JOURS	TUBES						
		1 (témoin)	2 (IV gtt.)	3 (VIII gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV gtt.) etc.
Chlorhydrique	1	+	+	+				
	2	+	+	+	+			
	8	+	+	+	+	+		
	15	+	+	+	+	+		
Azotique	1	+	+	+				
	2	+	+	+	+			
	6	+	+	+	+	+		
	15	+	+	+	+	+		
Sulfurique	1	+	+	+				
	2	+	+	+	+			
	3	+	+	+	+			
	4	+	+	+	+	+		
	10	+	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	+	

Pour l'acide chlorhydrique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{31,35 - 21,53}{20 \times 0,001825} = 269$$

Pour l'acide azotique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{28,23 - 18,46}{20 \times 0,00315} = 155$$

Pour l'acide sulfurique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{27,78 - 18}{24 \times 0,00245} = 166,3$$

	JOURS	TUBES				
		1 (témoin)	10 (XXXVI)	11 (XXX)	12 (XXXIV)	13 (11L gouttes)
Acide oxalique	1	+				
	2	+	+			
	3	+	+			
	4	+	+	+		
	7	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	

Pour l'acide oxalique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{25,5 - 15,7}{48 \times 0,00315} = 64,8$$

Influence des alcalis. — Deux gouttes de potasse ou de soude arrêtent tout développement du *St. carbonaria*; une goutte suffit pour retarder la germination de 5 à 8 jours.

Pour la potasse, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{39,47 - 29,9}{2 \times 0,0028} = 1708,9$$

Pour la soude, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{42 - 32,4}{2 \times 0,002} = 2400$$

Action sur les composés azotés. — *Albumine d'œuf cuite.* — Elle ne présente ni liquéfaction, ni transparence sur les bords.

Lait saturé de craie. — Sous le voile noirâtre formé à la surface, on aperçoit quelques flocons de caséine. La peptonification est très lente, comme l'a déjà signalé SARTORY [76].

Caséine. — Le cube met plusieurs jours à disparaître.

Action sur les hydrates de carbone (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution des ferments).

Saccharose. — Interversion, mais assez faible, ayant donné par litre 13 gr. (en glucose) de sucre réducteur.

Maltose. — Il est dédoublé.

Lactose. — Aucune modification.

Glucose. — Pas d'alcool produit.

Empois d'amidon. — Liquéfaction partielle ; après six jours, la liqueur renferme 15,5 (en glucose) de sucre réducteur par litre.

Pouvoir pathogène [79]. — « C'est peut-être au *St. carbonaria* qu'il faut rapporter l'observation de DE MEIS « et PARASCANDOLO (1895), relative à un *Aspergillus carbonarius sive ater*, trouvé dans des cultures de fausses « membranes diphtéritiques. L'optimum était entre + 30° « et + 37° ; les inoculations au Lapin furent positives après « 48 heures ; les inhalations au même animal après vingt « jours ». GUÉGUEN, p. 172 [35]. Les Lapins, inoculés avec le *Sterigmatocystis carbonaria* précédemment décrit, se sont montrés plus résistants.

Un premier Lapin de 1.978 gr. a reçu dans la veine marginale de l'oreille 2^{cc} d'une émulsion de conidies (51 millions environ par c.c.) provenant d'une culture de huit jours.

Poids le deuxième jour.....	1.928	gr.
— troisième jour.....	1.879	—
— quatrième jour.....	1.920	—
— cinquième jour.....	1.943	—
— sixième jour.....	1.967	—
— septième jour.....	1.966	—

L'animal reprend ensuite son poids primitif et ne montre aucun signe de malaise.

Un deuxième Lapin de 1.808 gr. a reçu une dose plus forte (4^{cc} de la même émulsion).

Poids le deuxième jour.....	1.768	gr.
— troisième jour.....	1.679	—
— quatrième jour.....	1.658	—
— cinquième jour.....	1.620	—
— sixième jour.....	1.508	—
— septième jour.....	1.376	—
— huitième jour.....	1.260	—

Trouvé le matin mort dans sa cage, il est immédiatement autopsié. Le foie, les reins et les poumons, à part quelques taches blanches de distance en distance, ne présentent aucun signe particulier ; le cœur et la rate sont normaux. Ces viscères, à l'examen histologique, ne contiennent que des conidies sans filament mycélien.

Un troisième Lapin de 2.478 gr. a été inoculé avec 4^{cc} d'émulsion à 60 millions de conidies par c.c. Son poids, les jours suivants, est de 2.360 gr., puis de 2.344 gr. ; il tombe peu après à 2.264, mais augmente ensuite et quatorze jours après l'inoculation il a atteint 2.520 gr. ; à ce moment l'animal meurt. A l'autopsie, la cavité thoracique est remplie de sérosité ainsi qu'une partie de la région sous-cutanée ; tous les organes sont d'aspect normal et les coupes histologiques montrent des conidies non germées.

Il est assez difficile de se prononcer sur les causes qui ont déterminé la mort de ces deux derniers Lapins, dont le premier était très amaigri dès le début. Cependant la plupart des tubes de Raulin qui ont étéensemencés d'un fragment des divers organes se recouvrent de *St. carbonaria*. Ceci démontre la nécessité et l'importance de l'examen histologique avant de conclure à la virulence du champignon, dont nous venons de constater l'extrême résistance des conidies. On les rencontre encore dans le foie et le rein, *quatorze jours après l'inoculation*.

Caractéristiques du *Sterigmatocystis carbonaria*
BAINIER.

Couleur des cultures sur Raulin : 65 C. des C. au quatrième jour.

Dimensions (en μ) :

Conidie.....	7	à	8
— germant.....	12,5	à	14
Baside (longueur).....	40	à	70
— (diamètre).....	12	à	18
Diamètre des filam. mycéliens.	3,8	à	4,8
Sterigmate (longueur).....	9	à	12
— (diam. moyen)....	6		
Conidiophore (hauteur).....	1.000	à	3.000
— (diam. moyen du pied).	12		
— (diam. de la tête).....	35	à	70

Optimum de croissance. — Voisin de 32°.

Pouvoir inhibitoire. — Acide chlorhydrique : 269. Acide azotique : 155. Acide sulfurique : 166. Acide oxalique : 64. Potasse : 1.708. Soude : 2.400.

Ferments sécrétés. — Présure, caséase, invertine, maltase et amylase.

Non pathogène : pour le Lapin.

CHAPITRE V.

Sterigmatocystis lutea Bainier (pl. II, fig. 5).

VAN TIEGHEM [88] a dénommé *St. lutea* un *Sterigmatocystis* à tête jaune-chamois qu'il avait rencontré sur des graines de dattier mises à germer sur de la mousse. BAINIER [1] a décrit sous le même nom un *Sterigmatocystis* d'abord jaune, mais qui verdit en vieillissant ; il l'a vu se développer plusieurs fois de suite sur du semen-contra exposé à l'humidité. Les deux citations se rapportent probablement au même organisme ; mais les descriptions par trop sommaires ne nous permettent pas d'être sur ce point très affirmatif. L'échantillon qui a servi de point de départ à nos expériences est celui de BAINIER, qui le cultive à la Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie.

Les conidies du *Sterigmatocystis lutea*, placées dans des conditions favorables, augmentent considérablement de volume (d), et donnent ensuite naissance à un filament mycélien qui rapidement se cloisonne et se ramifie. Sur le mycélium rampant ainsi formé (m), se dressent des conidiophores de 300 à 800 μ de hauteur, à surface granuleuse (a). Le renflement sphérique qui les termine se recouvre dans ses trois quarts supérieurs, de basides couronnées d'un nombre variable (souvent 4 à 6) de stérigmates en forme de quille de 9 μ sur 4 μ (e). Les conidies groupées en panache, sphériques, lisses, de 3,5 à 3 μ 8, (c), d'abord jaunes, donnent aux cultures leur couleur verdâtre (283 C. des C.).

Aspect des cultures sur différents milieux (étuve à 22°).

— *Pomme de terre*. — Après 24 heures, apparaissent des filaments blanchâtres, formant dès le second jour un mycélium fertile, jaune jusqu'au cinquième jour, puis verdissant à mesure que le thalle feutré vieillit et se plisse.

Pomme de terre acide. — Idem.

Carotte. — Même début, mais le mycélium reste plan, jaune-chlore jusqu'au septième jour, puis vert-pré le onzième jour. L'examen microscopique, après un mois, montre des filaments entrelacés, à membrane épaissie, qui semblent être des débuts de sclérote.

Albumine d'œuf cuite. — Développement moins rapide; formes normales.

Raulin neutre gélatiné. — Le milieu est liquéfié en totalité le septième jour. Le liquide formé, jaune clair, est recouvert après un mois d'une membrane vert-noirâtre.

Bouillon gélatiné. — La liquéfaction apparaît le quatrième jour, et progresse ensuite lentement.

Bouillon gélosé. — Le second jour on aperçoit de petites taches blanches, qui passent successivement au jaune, puis au vert-pré. Leur accroissement se fait avec lenteur et la culture, après un mois, n'est guère plus avancée qu'au huitième jour.

Raulin normal. — Après 24 heures, les conidies ont donné des filaments blanchâtres de 0^{mm}17 à 0^{mm}24 de longueur. Un voile mince, chagriné, est constitué dès le deuxième jour; le troisième, il se recouvre de petits points jaunes, et le cinquième il devient très boursoufflé, vert à la partie supérieure et rosé à la face inférieure. Raulin éga-

lement teinté de rose. Quand le liquide, en contact avec le mycélium, s'appauvrit en principes nutritifs ou lorsque l'air se vicie, les colorations s'atténuent assez rapidement.

Raulin neutre. — Culture moins vigoureuse que la précédente ; les plissements du voile sont moins prononcés, mais l'aspect général est le même.

Bouillon. — Développement moins rapide que sur Raulin. Le voile resté toujours lisse, filamenteux et ne prend jamais de coloration rose. L'examen microscopique montre des caractères identiques à ceux observés sur gélatine ou géluse et qui sont : conidiophores souvent très cloisonnés, formes aspergilloïdes très fréquentes, conidies légèrement verruqueuses.

Milieux sucrés. — Sur saccharose, maltose et glucose la croissance est sensiblement la même ; elle est moins rapide avec le lactose.

Influence de la température.

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Filaments mycéliens unicellulaires ..	180 milligr.
27°	Filaments cloisonnés et ramifiés.....	398 —
32°	Voile assez étendu. Appareils conidiens.....	430 —
37°	Même aspect ; voile un peu plus large	462 —
42°	Conidies sur le point de germer.....	Traces.
50°	Rien :	0

L'optimum cultural est donc voisin de 37°.

Influence des acides.— (t. + 37°).

ACIDES	JOURS	TUBES						
		1 (témoin)	2 (IV gtt.)	3 (VIII gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV gtt.) etc.
Chlorhydrique et azotique	1	+	+	+				
	...							
	15	+	+	+				
Sulfurique	1	+	+	+				
	...							
	5	+	+	+	+			
	...							
Oxalique	1	+	+	+	+	+		
	2	+	+	+	+	+	+	
	...							
	15	+	+	+	+	+	+	

Pour l'acide chlorhydrique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{34,91 - 25,35}{12 \times 0,001825} = 436,5$$

Pour l'acide azotique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{31,85 - 22,32}{12 \times 0,00315} = 252,3$$

Pour l'acide sulfurique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{33,75 - 24,2}{16 \times 0,00245} = 243,6$$

Pour l'acide oxalique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{38,33 - 28,73}{24 \times 0,00315} = 126,9$$

Influence des alcalis.—

	JOURS	TUBES					
		1 (témoin)	2 (I gtt.)	3 (II gtt.)	4 (III gtt.)	5 (IV gtt.)	6 (V gouttes) etc.
Potasse et soude	1	+					
	2	+	+				
	3	+	+	+			
	4	+	+	+			
	5	+	+	+	+		
	6	+	+	+	+		
	7	+	+	+	+	+	
	...						
	15	+	+	+	+	+	

Pour la potasse, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{35,05 - 25,65}{5 \times 0,0028} = 671,4$$

Pour la soude, le pouvoir inhibitoire est de ;

$$\frac{32,3 - 22,86}{5 \times 0,002} = 944$$

Action sur les composés azotés. — *Albumine d'œuf cuite.* — Sous les anciennes cultures de *Sterigmatocystis*, les bords de l'albumine deviennent transparents sans jamais se liquéfier.

Lait saturé de craie. — Ce milieu, complètement recouvert d'un voile le troisième jour, se transforme rapidement en un liquide jaunâtre, trouble, qui s'éclaircit par la suite. Il ne s'y forme aucun flocon de caséine.

Caséine. — Il y a peptonification.

Action sur les hydrates de carbone (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution des ferments).

Saccharose. — Une grande partie de la solution se trouve intervertie.

Maltose. — Le dédoublement est constaté par une diminution de 1°18' du pouvoir rotatoire et une augmentation sensible des propriétés réductrices.

Lactose. — Aucun changement.

Glucose. — Pas de formation d'alcool.

Empois d'amidon. — Se liquéfie en restant trouble ; mais la filtration donne un liquide très clair, renfermant 19 gr. 8 (en glucose) de sucre réducteur par litre.

Pouvoir pathogène [77]. — Un lapin pesant 1.793 gr. est inoculé dans la veine périphérique de l'oreille avec 2^{cc} d'une émulsion de conidies dans le sérum physiologique (29 millions de conidies environ par cc.). Dès le second jour, perte de poids de 53 gr., poil hérissé, stupeur. Le lendemain, nouvelle perte de poids de 242 gr. L'animal est abattu, chancelant, les oreilles pendantes; il meurt le troisième jour.

A l'autopsie, le foie est volumineux, tuméfié, portant l'empreinte des côtes; nombreux placards blancs à la face convexe. Cœur normal; rein augmenté de volume; poumons présentant des taches noires très étendues, et deux petits abcès bosselés dans la région médiastine.

Les cultures tentées sur Raulin avec ces divers organes ont été positives, sauf avec le sang.

Les lésions histologiques sont les suivantes :

Reins. — Pas de filaments mycéliens, pas de développement anormal du tissu conjonctif; vaisseaux non dilatés; cellules épithéliales uniformément troubles, tuméfiées, obturant la lumière des tubuli; léger exsudat albumineux.

Foie. — *Bourré de filaments mycéliens*; congestion des capillaires intra-hépatiques; tuméfaction, trouble général des cellules hépatiques; infiltration embryonnaire des espaces portes sans pyéliphlébite, ni angiocholite appréciables; quelques nodules infectieux dans les lobules; veines sous-hépatiques normales.

Rate. — Normale; pas de champignon.

Poumons. — Pas de mycélium; vaisseaux dilatés, gorgés de sang; alvéoles remplis par un exsudat albumineux avec filaments de fibrine; épithélium alvéolaire peu distinct et généralement tuméfié; plusieurs acini infiltrés de leucocytes et de cellules rondes à noyaux fortement colorés.

Cœur. — Myocarde normal ; péricarde viscéral présentant de fines végétations.

Le *Sterigmatocystis lutea* est donc doué d'un pouvoir pathogène très marqué. Les lésions qu'il produit sont d'ailleurs comparables à celles que nous avons décrites dans les mycoses expérimentales, dues à l'*Aspergillus fumigatus*.

Caractéristiques du *Sterigmatocystis lutea* BAINIER.

Couleur des cultures sur Raulin : 259 C. des C. au quatrième jour.

Dimensions (en μ) :

Conidie.....	3,5 à	3,8
— germant.....	8,6 à	10
Baside (longueur moyenne).....		10
— (diamètre moyen).....		6
Largeur des filaments mycéliens.	4,5 à	5,5
Stérigmate (long. moyenne).....		9
— (diam. moyen).....		4
Conidiophore (hauteur).....	300 à	800
— (diam. moyen du pied)...		6,3
— (diam. de la tête).....	12 à	30

Optimum de croissance. — Voisin de 37°.

Pouvoir inhibitoire. — Acide chlorhydrique : 436. Acide azotique : 252. Acide sulfurique : 243. Acide oxalique : 126. Potasse : 671. Soude : 944.

Ferments sécrétés. — Trypsine (faible quantité), caséase, invertine, maltase et amylase.

Pathogène : pour le Lapin.

CHAPITRE VI.

Sterigmatocystis fusca Bainier (pl. II, fig. 6).

Le *Sterigmatocystis fusca* a été trouvé sur des semences de Staphysaigre par BAINIER [1], qui en a obtenu des cultures prospères sur du pain, du plâtre sucré, et des noix de galle concassées. Cette Mucédinée possède des conidiophores à surface échinulée (a) de 800 à 1.200 μ de hauteur, dont la tête sphérique de 40 à 60 μ est recouverte, dans ses trois quarts supérieurs, de basides cylindriques de 18 à 26 μ sur 10 μ (e), couronnées chacune d'un à quatre stérigmates claviformes de 16 sur 7, s'égrenant en une file de conidies sphériques, échinulées, jaunes, de 5,5 à 6 μ (c). Dans cette espèce encore, nous avons vu facilement les conidies prendre naissance à l'intérieur d'un tube à paroi mince et colorée (k).

Aspect sur différents milieux de culture (étuve à 22°). — *Pomme de terre*. — Après 24 heures apparaissent des filaments blanchâtres, et dès le second jour des conidiophores, dont quelques-uns seulement fructifient; leur ensemble forme au centre de la strie une trainée fauve entourée d'un liseré floconneux, blanc de neige, de trois à quatre millimètres de largeur. Le cinquième jour la surface est entièrement recouverte d'appareils conidiens, et la teinte est uniformément vert-orange (178 C. des C.).

Pomme de terre acide et Carotte. — Le développement s'effectue de même.

Albumine d'œuf coagulée. — Ce milieu est moins favorable au champignon ; il y croît cependant, en prenant une teinte plus foncée, voisine du brun-chocolat.

Raulin neutre gélatiné. — Il est transformé complètement dès le sixième jour en un liquide incolore et limpide.

Bouillon gélatiné. — Le troisième jour, début de liquéfaction qui progresse rapidement.

Bouillon gélósé. — La croissance est lente, et l'envahissement de la surface n'est pas encore complet le quinzième jour. Ainsi que sur gélatine, on observe des conidiophores à pied cloisonné, couronnés de basides simples (formes aspergilloïdes).

Raulin normal. — Il se couvre de quelques filaments blanchâtres après 24 heures, et d'un voile fertile dès le second jour. Ce voile est lisse, d'abord jaune-olive (157 C. des C.) à la face supérieure, puis la partie en contact avec le liquide sous-jacent devient orangée le septième jour. Plus tard, un mycélium jaunâtre couvre tout le milieu.

Raulin neutre. — La culture est analogue, mais moins vigoureuse.

Bouillon. — Le *Sterigmatocystis* y croît lentement ; le voile qu'il forme reste plan et filamenteux. Dans les appareils fructifères on rencontre un mélange de formes normales et de formes aspergilloïdes.

Milieux sucrés. — Sur Raulin additionné de différents sucres, la croissance de la Mucédinée se fait dans l'ordre suivant : le maltose donne le plus beau développement, puis le saccharose, le glucose et le lactose ; sur ce dernier, le voile demeure toujours filamenteux, lisse et de teinte brun-chocolat (109 C. des C.).

Influence de la température.

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Germination des conidies.....	250 milligr.
27°	Filaments cloisonnés et ramifiés....	407 —
32°	Filaments plus allongés. Conidio- phores.....	412 —
37°	Même aspect qu'à 27°.....	401 —
42°	Rien	0 —
50°	Rien	0 —

Les différences, d'abord peu marquées entre les poids des mycélium végétant de 27° à 37°, sont plus considérables si les pesées sont effectuées après trois jours.

à 27° Poids du mycélium..	116 milligr.
à 32° —	260 —
à 37° —	124 —

D'après ces résultats, l'optimum cultural semble très voisin de 32°.

Influence des acides. — (t. + 37°).

ACIDES	JOURS	TUBES							
		1 (témoin)	2 (IV gtt.)	3 (VIII gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV g)	8 (XXVIII g), etc.
Chlorhydrique et azotique	1	+	+	+					
	15	+	+	+					
Sulfurique	1	+	+	+					
	2	+	+	+					
	3	+	+	+	+				
	15	+	+	+	+				
Oxalique	1	+	+	+	+	+	+	+	
	2	+	+	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	+	+	

Le pouvoir inhibitoire des acides minéraux est à peu près le même que pour le *St. lutea* :

Pour l'acide chlorhydrique, il est égal à :

$$\frac{35,55 - 25,97}{12 \times 0,001825} = 437,4$$

Pour l'acide azotique, à :

$$\frac{37,84 - 28,26}{12 \times 0,00315} = 253,4$$

Pour l'acide sulfurique, à :

$$\frac{31,81 - 22,21}{16 \times 0,00245} = 244,9$$

Pour l'acide oxalique, à :

$$\frac{30,5 - 20,35}{28 \times 0,00315} = 115$$

Influence des alcalis.

	JOURS	TUBES					
		1 (témoin)	2 (I gtt.)	3 (II gtt.)	4 (III gtt.)	5 (IV gtt.)	6 (V gtt.) etc.
Potasse et	1	+					
	2	+	+				
	3	+	+				
	4	+	+	+			
Soude	7	+	+	+	+		
	8	+	+	+	+		
	9	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	

Les pouvoirs inhibitoires vont encore se rapprocher de ceux du *St. lutea* :

Pour la potasse, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{32,62 - 23,2}{5 \times 0,0028} = 672,8$$

Pour la soude, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{31,84 - 22,41}{5 \times 0,002} = 943$$

Action sur les composés azotés. — Albumine d'œuf cuite. — Une légère transparence apparaît sur les bords et gagne très lentement le reste de la masse.

Lait saturé de craie. — Un voile le recouvre dès le troisième jour, et, sans coagulation préalable de la caséine, le lait devient jaunâtre et transparent.

Caséine. — Est peptonifiée.

Action sur les hydrates de carbone. — (Résultats obtenus cinq jours après addition de la solution des ferments).

Saccharose. — Le pouvoir rotatoire est lévogyre ; la presque totalité du sucre a été dédoublée.

Maltose. — Les différences, assez faibles au polarimètre et à la liqueur de Fehling avec la solution-témoin, indiquent cependant la présence de glucose.

Lactose. — Pas de modification.

Glucose. — Pas de production d'alcool.

Empois d'amidon. — La filtration donne une liqueur très claire renfermant par litre 16 gr. 90 (en glucose) de sucre réducteur.

Pouvoir pathogène [78] — Un Lapin de 2.173 gr. inoculé dans la veine marginale de l'oreille avec 2^{cc} d'une émulsion chargée de conidies (20 millions environ par c.c.), est pesé quotidiennement. Il perd successivement 205 gr., 86 gr. et le troisième jour, 24 gr. A ce moment, il présente des mouvements de manège et des troubles de l'équilibration, phénomènes déjà signalés pour d'autres moisissures par LICHTHEIM [53] en 1882 et LINDT [54] en 1886. Le lendemain, il diminue encore de 115 gr., et meurt vers le soir, son poids n'étant plus que de 1.710 gr. L'autopsie pratiquée immédiatement montre le cœur un peu gros, la rate et le pancréas normaux, les poumons hypertrophiés, le foie parsemé de petites granulations blanches, situées surtout dans les lobes droit et gauche. Le rein droit est normal, le gauche granuleux, parsemé de points blancs. Les matras de Raulin,ensemencés avec un fragment de ces divers organes, se recouvrent rapidement à 37° de *Sterigmato-cystis fusca* ; seuls, ceux qui ont reçu quelques gouttes de sang du cœur restent stériles.

A l'examen histologique, on constate :

Dans le foie, des *filaments mycéliens* peu abondants.

Congestion marquée, avec dissociation des travées hépatiques par les globules rouges. Infiltration embryonnaire des espaces portes ; quelques nodules embryonnaires à l'intérieur de lobules. Pas de dégénérescence vacuolaire des cellules hépatiques ; tuméfaction trouble.

Rein droit. — Néphrite aiguë diapédétique. Substance corticale infiltrée de globules, qui par endroits se réunissent en amas.

Rein gauche. — Mêmes lésions qu'au droit, mais plus marquées. Trainées leucocytaires radiées dans la substance corticale.

Rate. — Normale.

Poumons. — Pas de mycélium, mais vaisseaux dilatés, gorgés de sang ; épithélium alvéolaire tuméfié.

Cœur. — Myocarde normal ; péricarde viscéral avec quelques fines végétations.

Nous connaissons le pouvoir pathogène du *Sterigmatocystis subfusca* de JOHAN-OLSEN [63]. Cette espèce, d'ailleurs incomplètement décrite, a des conidies lisses de 3 à 4 μ ; celles du *Sterigmatocystis fusca* Bainier sont échinulées et d'un diamètre plus considérable (5,5 à 6 μ). Ces caractères différentiels suffisent à faire des deux Mucédinées des espèces bien distinctes.

Caractéristiques du *Sterigmatocystis fusca* Bainier.

Couleur des cultures sur Raulin : 157 C. des C. au quatrième jour.

Dimensions (en μ) :

Conidie.....	5,5 à	6
— germant.....	10 à	12,5

Baside (longueur).....	18	à	26
— (diam. moyen).....			10
Diamètre des filam. mycéliens.	3,4	à	5
Stérigmate (longueur).....	12	à	18
— (diam. moyen).....			7
Conidiophore (hauteur)	800	à	1.200
— (diam. moyen du pied) .			7
— (diam. de la tête).....	40	à	60

Optimum de croissance. — Voisin de 32°.

Pouvoir inhibitoire. — Acide chlorhydrique : 437. Acide sulfurique : 244. Acide azotique : 253. Acide oxalique : 415. Potasse : 672. Soude : 943.

Ferments sécrétés. — Trypsine (faible quantité), caséase, invertine, maltase et amylase.

Pathogène : pour le Lapin.

CHAPITRE VII.

Pœcilomyces Varioti Bainier (pl. II, fig. 7).

Le *Pœcilomyces Varioti* a été découvert par BAINIER [2] sur des tiges mortes d'osier où il formait des couches minces d'une couleur fauve, légèrement verdâtre. « Ce genre nouveau est voisin des *Penicillium* et des *Aspergillus* ; comme ces plantes, il se développe facilement sur les substances les plus diverses. Son caractère constant est d'avoir des stérigmates plus ou moins allongés (e), en forme de massue, que l'on rencontre soit isolés, soit en nombre variable et surmontés d'une longue file de conidies. » Les filaments mycéliens, d'une épaisseur de 3,3 à 5 μ , sont très cloisonnés, et portent de nombreuses ramifications latérales. Sur ces dernières ou sur le support principal lui-même, se forment les stérigmates d'une longueur de 27 à 37 μ sur 4 μ en moyenne de large (a) ; ils présentent parfois l'aspect du pinceau fructifère des *Penicillium* ; d'autres fois, surmontant une cellule légèrement renflée, ils offrent la forme d'un *Aspergillus*. Les conidies qui donnent au champignon sa teinte jaunâtre sont de dimensions très inégales, « et constituent de longs chapelets avant d'avoir atteint leur grosseur complète ; à la maturité, elles sont ovales et mesurent en moyenne de 3 à 6 μ . » (c).

Aspect sur différents milieux de culture (étuve à 22°). — *Carotte*. — Après 24 heures, légère tache blanche s'étend

dant assez rapidement. Le deuxième jour, coloration jaune, mais le pourtour de la culture, formé uniquement d'hyphes, stériles, reste blanchâtre. Au centre, se forment des pinceaux très serrés de stérigmates portant de nombreuses conidies. La coloration (162 C. des C.) s'accroît, tiré sur le vert, et s'atténue par le vieillissement. Il apparaît alors des filaments formés de cellules courtes et ovales que nous avons observées dans tous les milieux pauvres ou qui commencent à s'épuiser (p) ; à leur intérieur existent de nombreux globules gras de grosseur très variable.

Pomme de terre. — Le développement y est moins rapide que sur carotte. Après quelques jours, de longs filaments blancs garnissent tout l'espace compris entre le substratum et les parois du tube ; ils sont formés de longues cellules parfois renflées à l'une de leurs extrémités et supportent de rares stérigmates. Sur des cultures âgées d'un mois, nous avons remarqué des filaments s'enroulant en spirale, dont quelques-uns simulaient un début de périthèce. Malgré nos essais, nous n'avons pu obtenir la formation de ces derniers.

Pomme de terre acide. — Développement semblable.

Albumine d'œuf cuite. — Peu favorable à la croissance du champignon, qui n'a formé après un mois qu'une tache jaune rosée de faible étendue.

Raulin neutre gélatiné. — Il est transformé très lentement en un liquide dont la consistance et la teinte sont analogues à celles du sirop d'écorces d'oranges amères.

Bouillon gélatiné. — Le premier jour, on observe une trainée blanchâtre. Dès le second jour, apparaît la teinte fauve entourée d'une bande blanche comme sur Carotte ; mais la coloration persiste moins longtemps et passe au

gris. La liquéfaction est peu rapide, elle n'est pas complète après un mois.

Bouillon gélosé. — Appareils conidiens dès le second jour, mais au cinquième le fond du tube est encore blanc. Les stérigmates ne s'y rencontrent qu'au sixième jour, toute la surface est alors jaunâtre. La gélose n'est jamais liquéfiée, mais prend dans les vieilles cultures une teinte rouge foncée.

Raulin normal. — Après 24 heures, petits points blanchâtres. Le deuxième jour, voile blanc-neige, grim pant, qui se recouvre le lendemain de nombreux pinceaux conidiens. Certaines cellules simplement renflées à une extrémité portent des conidies en nombre variable (une à quatre), rattachées par un filament mince et court (b'). Après un mois, le voile lisse, recouvert d'une couche épaisse de conidies, se déchire et prend une teinte bleu-foncé à sa face inférieure.

Raulin neutre. — Culture plus tardive, mais semblable à la précédente.

Bouillon. — Le deuxième jour, voile formé de filaments minces, allongés et dichotomisés, qui dans la suite forment des chlamydospores et se remplissent de globules gras.

Milieux sucrés. — L'aspect et la vigueur des cultures, donnant un voile qui fructifie dès le troisième jour, sont les mêmes sur Raulin saccharosé, maltosé, glucosé et lactosé.

Influence de la température. —

TEMPÉRATURE	ASPECT MICROSCOPIQUE d'une culture de 1 jour sur Raulin	POIDS DU MYCÉLIUM après 5 jours sur Raulin
22°	Filaments courts, non cloisonnés....	108 milligr.
27°	Filaments avec quelques ramifications	246 —
32°	Apparition des appareils conidiens..	280 —
37°	Filaments très allongés et organes reproducteurs.....	288 —
42°	Quelques conidies germent	109 —
50°	Rien.....	0 —

Bien que l'examen microscopique indique un optimum de température voisin de 37°, les faibles différences notées dans les poids du mycélium après cinq jours de culture peuvent être contestées.

En effectuant les pesées après trois jours seulement, on obtient :

à 27°.....	102 milligr.
à 32°.....	158 —
à 37°.....	251 —

De l'ensemble de ces résultats, il ressort que la température de 37° est la plus favorable au développement du *Pœcilomyces*.

Dans une culture de six jours à 46°, nous avons pu constater la formation de maigres appareils fructifères. Réensemencées sur Raulin et portées à 47°, les conidies germent encore, mais à 48°, il ne se montre plus de filaments mycéliens. On a atteint la limite de végétation de la Mucédinée.

Influence des acides. — (t. + 37°).

ACIDES	JOURS	TUBES						
		1 (témoin)	2 (IV gtt.)	3 (VII ¹ gtt.)	4 (XII gtt.)	5 (XVI gtt.)	6 (XX gtt.)	7 (XXIV gtt.) etc.
Chlorhydrique	1	+	+	+				
	2	+	+	+	+			
	8	+	+	+	+			
	9	+	+	+	+	+		
	15	+	+	+	+	+		
Sulfurique	1	+	+	+	+			
	2	+	+	+	+	+		
	5	+	+	+	+	+		
	6	+	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	+	
Azotique	1	+	+	+	+			
	8	+	+	+	+			
	9	+	+	+	+	+		
	15	+	+	+	+	+		

Pour l'acide chlorhydrique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{32,85 - 23}{20 \times 0,001825} = 269,8$$

Pour l'acide sulfurique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{55,87 - 25,98}{24 \times 0,00245} = 168,1$$

Pour l'acide azotique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{30,6 - 21}{20 \times 0,00315} = 152,3$$

Acide oxalique	JOURS	TUBES			
		1 (témoin)	10 (XXXVI)	11 (XXXIX g)	12 (XXXXIV gouttes) etc.
	2	+	+		
	3	+	+	+	
	15	+	+	+	

Pour l'acide oxalique, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{30,82 - 21,1}{44 \times 0,00315} = 70$$

Influence des alcalis. —

Potasse	JOURS	TUBES			
		1 (témoin)	2 (I gtt.)	3 (II gtt.)	4 (III gouttes) etc.
	1	+			
	5	+			
	6	+	+		
	7	+	+		
	8	+	+	+	
	15	+	+	+	

Soude	JOURS	TUBES			
		1 (témoin)	2 (I gtt.)	3 (II gtt.)	4 (III gouttes) etc.
	1	+			
	2	+			
	3	+			
	4	+	+		
	7	+	+		
	8	+	+	+	
	15	+	+	+	

Pour la potasse, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{35,9 - 24,6}{3 \times 0,0028} = 1130$$

Pour la soude, le pouvoir inhibitoire est de :

$$\frac{29,53 - 20}{3 \times 0,002} = 1588$$

Action sur les composés azotés. — Les cultures de *Pœcilomyces* sur lait et albumine restent toujours chétives et de faible étendue, nous avons effectué les réactions suivantes avec la liqueur aqueuse fermentaire.

Albumine d'œuf cuite.— Ni liquéfaction, ni transparence des bords.

Lait saturé de craie. — Le deuxième jour, se forment quelques flocons de caséine, qui disparaissent peu à peu en donnant une liqueur légèrement opalescente.

Caséine.— Peptonification comme dans le milieu précédent.

Action sur les hydrates de carbone. — *Saccharose.* — Ne subit aucune modification.

Maltose.— Le pouvoir rotatoire de la solution diminue rapidement. 9,2 cc. étaient nécessaires, après dilution au cinquième pour réduire 10 cc. de liqueur cupro-potassique (dosée, au glucose, à 5 ‰) ; 6 cc. suffisent après quatre jours.

Lactose.— Aucun changement.

Glucose.— Pas de formation d'alcool.

Empois d'amidon.— La liquéfaction avance progressivement ; le liquide clair, incolore, obtenu après six jours, renferme 23 gr. 6 (en glucose) de sucre réducteur par litre.

Pouvoir pathogène.— Une émulsion, très chargée de conidies (34 millions par cc.) préparée avec une culture de sept jours, est inoculée à la dose de 2 cc. dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin de 1870 grammes ;

Poids le deuxième jour....	1869 grammes.
— troisième jour....	1895 —
— quatrième jour....	1875 —
— cinquième jour....	1900 —

Après 15 jours, ce même Lapin a subi une nouvelle inoculation de 4 cc. (56 millions de conidies par cc.). Il pesait alors 1865 grammes.

Poids le deuxième jour....	1798 grammes.
— troisième jour....	1908 —
— quatrième jour....	1973 —

Ces essais, qui ont coïncidé avec ceux tentés avec le *Sterigmatocystis lutea*, prouvent que l'injection massive des conidies d'une Mucédinée, lorsqu'on opère convenablement, ne peut donner le change et faire croire au rôle pathogène d'une Mucédinée inoffensive.

Deux mois plus tard, en reprenant le même Lapin pour de nouvelles expériences, j'e constatai qu'à l'oreille inoculée il s'était produit une suppuration en voie de guérison. Le pus superficiel et concret s'étend en traînée blanchâtre de quelques millimètres de large. Par la méthode des plaques j'en ai isolé un Staphylocoque blanc et une moisissure, qui sur Raulin donne de belles cultures de *Pæcilomyces Varioti*. Le bacille seul m'a paru dans ce cas être l'agent de la suppuration, mais je signale ce fait, pour montrer à nouveau la résistance des conidies, qui, après deux mois passés dans un milieu phagocytaire, conservent encore leur pouvoir germinatif.

Le *Pæcilomyces Varioti*, malgré son optimum cultural de 37°, et les faibles dimensions des conidies, n'est donc pas une moisissure pathogène.

Caractéristiques du *Pæcilomyces Varioti* Bainier.

Couleur des cultures sur Raulin : 153 D, C. des C., au quatrième jour.

Dimensions (en μ) :

Conidie.....	3	à	6
— germant.....	7	à	8,6
Diamètre des filaments mycéliens.....	3,3	à	5
Sterigmate (longueur).....	27	à	37
— (diamètre moyen).....	4		
Chlamydospore.....	10	à	15

Optimum de croissance.—Voisin de 37°.

Pouvoir inhibitoire.—Acide chlorhydrique, 269. Acide azotique, 152. Acide sulfurique, 168. Acide oxalique, 70. Potasse, 1130. Soude, 1588.

Ferments sécrétés.—Présure, caséase, maltase et amy-lase.

Non pathogène : pour le Lapin.

CONCLUSIONS

Résumons brièvement les faits principaux que nous croyons avoir mis en lumière dans ce travail.

1. Par l'étude des cultures cellulaires, qui a donné en d'autres mains des résultats si féconds, nous avons complété et précisé certains détails de la structure des espèces étudiées, dont plusieurs étaient insuffisamment décrites et figurées. Nous avons observé, en particulier, la *formation endogène des conidies* dans les *Sterigmatocystis nigra*, *carbonaria* et *fusca*; il est probable que le petit diamètre des éléments conidiens des autres Mucédinées ne nous a pas permis de l'observer aussi chez elles.

2. Nous avons toujours vu coïncider l'optimum de germination et l'optimum de croissance; ces deux déterminations se contrôlent réciproquement, et la comparaison de l'état de germination aux diverses températures met à l'abri des erreurs qui pourraient être commises dans les pesées.

3. Dans l'extrême sensibilité de certaines moisissures à l'action des alcalis, nous trouvons l'explication des différences culturales entre le Raulin neutre et le bouillon toujours alcalin. Le Raulin neutre gélatiné est liquéfié par le *St. carbonaria*; dans les mêmes conditions, le bouillon gélatiné ne subit aucun changement, le champignon ne donnant ici que des cultures peu prospères.

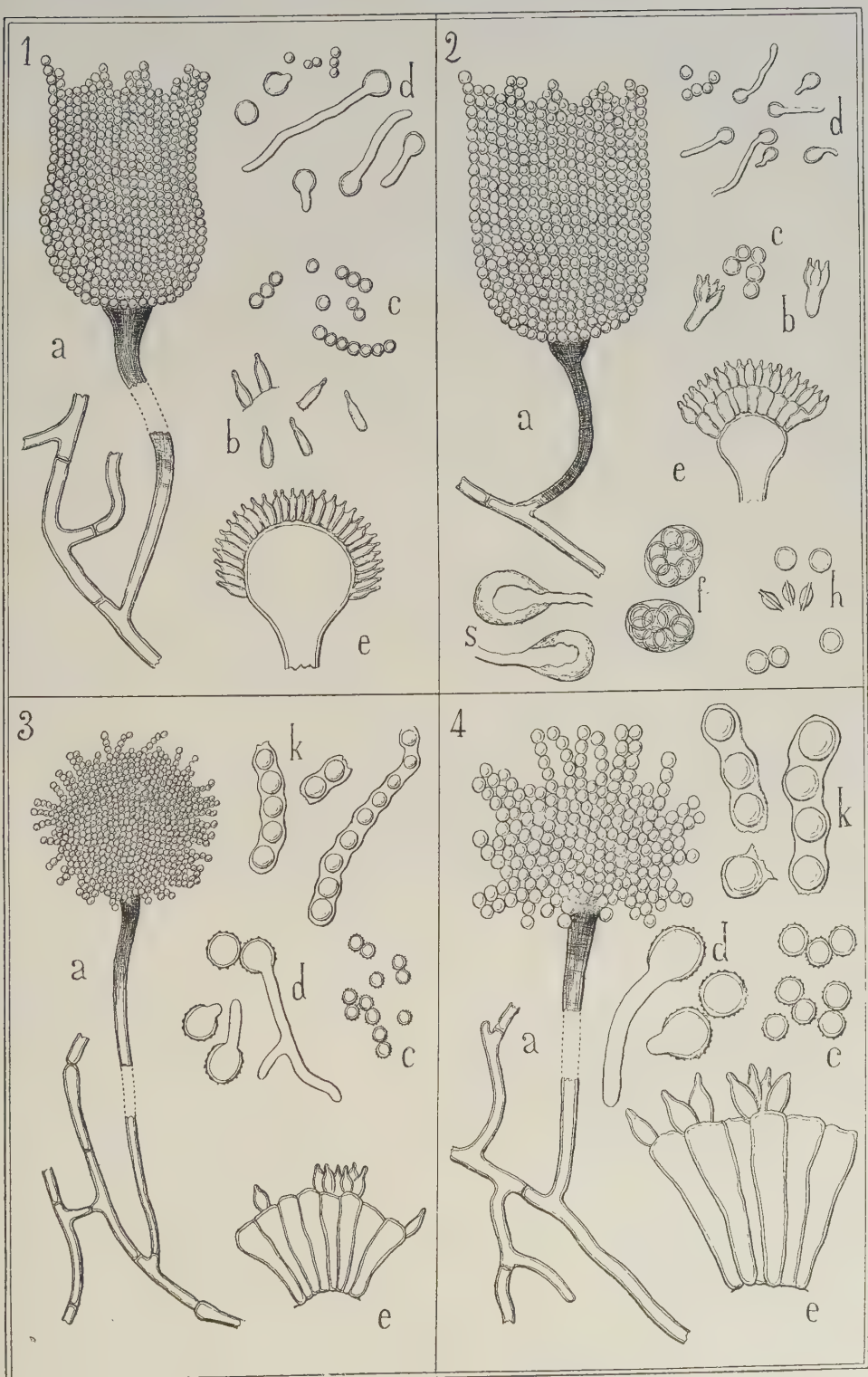
4. Les enzymes que nous avons obtenus en solution aqueuse sont ceux que les cellules mycéliennes laissent

diffuser au travers de leur membrane. Ces liquides fermentaires intéressants pour le biologiste peuvent encore avoir des applications industrielles. Le *Pæcilomyces Varioti* permet ainsi d'obtenir, en partant de l'amidon, de grandes quantités de glucose susceptible à son tour de fermenter sous l'influence de Mucorinées ou de Levûres.

5. Les *Sterigmatocystis lutea* et *fusca* ont un pouvoir pathogène bien marqué. Les *St. nigra* et *carbonaria* à doses très élevées (200 millions de conidies environ) provoquent la mort des Lapins, *sans que les conidies aient germé dans l'organisme*. On ne saurait, toutefois, attribuer leur nocivité à une action purement mécanique, car le *Pæcilomyces Varioti*, même à ces doses massives, ne produit aucun accident analogue.

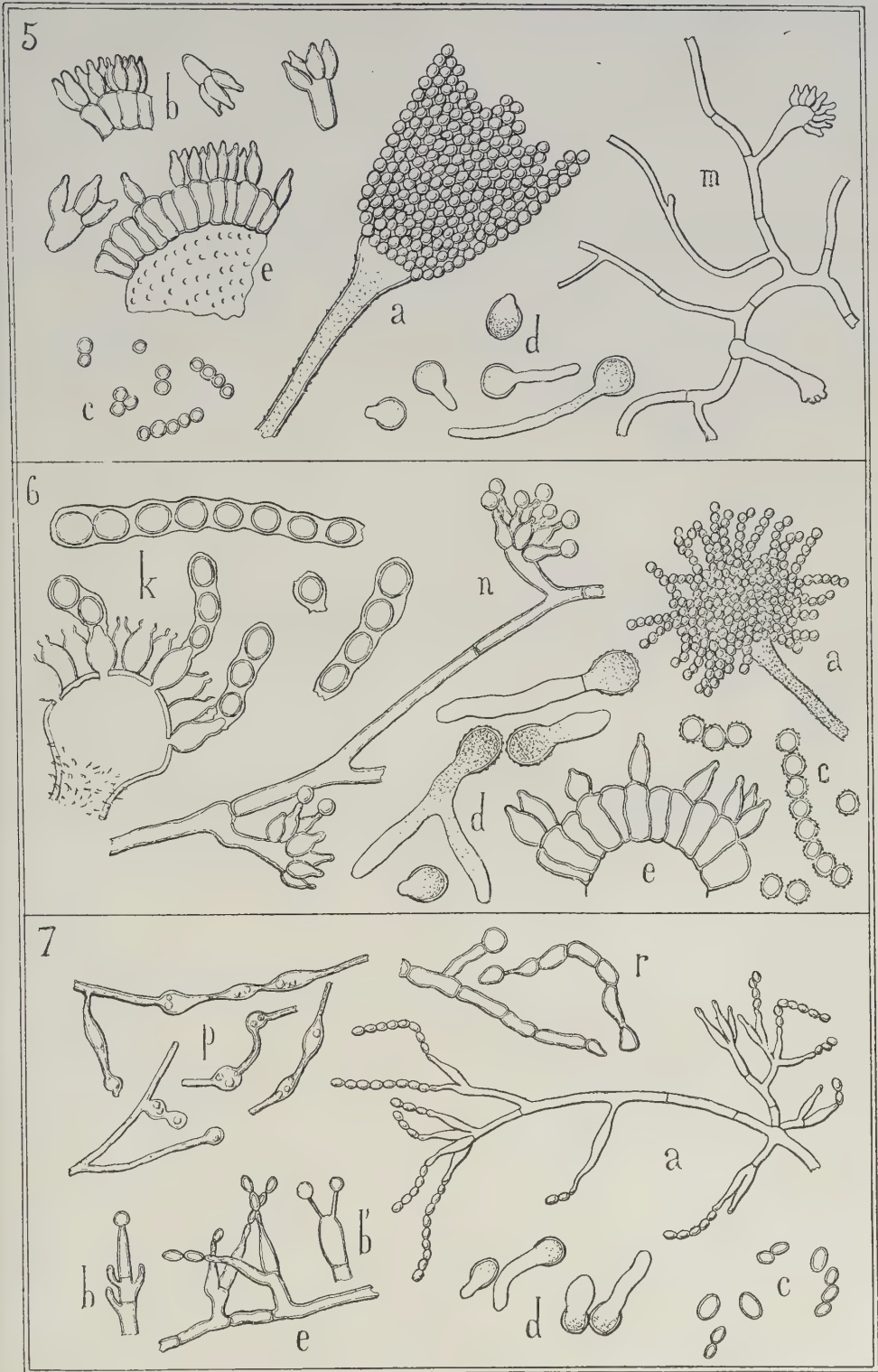
Ces résultats ne confirment donc pas l'hypothèse énoncée par GUÉGUEN, d'après laquelle cet auteur supposait que toute Mucédinée, dont l'optimum cultural était voisin de $+37^{\circ}$ avec conidies de 2 à 6μ , pouvait être pathogène; mais en comparant les pouvoirs inhibitoires des alcalis et des acides vis-à-vis des espèces étudiées, nous avons trouvé des différences très nettes entre les champignons pathogènes et les non pathogènes. Le pouvoir inhibitoire de la soude est supérieur à 1.500 vis-à-vis des *Sterigmatocystis nigra*, *carbonaria* et *Pæcilomyces*, inférieur à 1.000 vis-à-vis des *St. lutea* et *fusca* et au-dessous de 500 vis-à-vis de l'*Asp. fumigatus* et du *St. nidulans*. Pour la potasse, les différences sont de même ordre et de même sens. Les limites d'acidité sont inverses. Les pouvoirs inhibitoires des acides chlorhydrique, sulfurique, azotique et oxalique sont respectivement supérieurs à 330, 240, 190, 115 vis-à-vis des *St. nidulans*, *lutea*, *fusca*, *Asp. fumigatus*, et inférieurs à 270, 170, 155, 70 vis-à-vis des *Pæcilomyces Varioti*, *St. nigra* et *carbonaria*. De la comparaison de ces chiffres, obtenus avec sept Mucédinées assez voisines les unes des autres au point de vue de la dimension des

conidies et des caractères morphologiques, ressort avec évidence un fait important, c'est qu'il existe une relation entre le pouvoir pathogène des Mucédinées et les limites d'acidité et d'alcalinité entre lesquelles elles croissent ; les Mucédinées non pathogènes (*Sterigmatocystis nigra*, *carbonaria*, *Pæcilomyces Varioti*) sont inhibées par des doses d'alcalis qui permettent le développement d'espèces pathogènes (*St. lutea* et *fusca*) et surtout des espèces très virulentes (*Aspergillus fumigatus*, *Sterigmatocystis nidulans*).



Ant. Jourde del. et sc.

- | | |
|---|--|
| 1. <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius. | 2. <i>Sterigmatocystis nidulans</i> Eidam. |
| 3. <i>Sterigmatocystis nigra</i> Van Tieghem. | 4. <i>Sterigmatocystis carbonaria</i> Bainier. |



Ant Jourde del. et sc.

5. *Sterigmatocystis lutea* Bainier.

6. *Sterigmatocystis fusca* Bainier.

7. *Pæcilomyces Varioti* Bainier.

EXPLICATION DES PLANCHES.

N.-B. — Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire de Malassez, le microscope étant incliné à 45° (image reportée sur la table).

PLANCHE I.

FIG. 1. *Aspergillus fumigatus* Fresenius.

- a, appareil conidien (Grossissement = 530),
- b, stérigmates (Gr. = 800).
- c, conidies (Gr. = 800).
- d, conidies germant; au-dessus, quelques conidies avant la germination (Gr. = 530).
- e, tête du conidiophore (Gr. = 800).

FIG. 2. *Sterigmatocystis nidulans* Eidam.

- a, appareil conidien (Gr. = 530).
- b, basides et stérigmates (Gr. = 800).
- c, conidies (Gr. = 800).
- d, conidies germant; au-dessus, quelques conidies avant la germination (Gr. = 580).
- e, tête du conidiophore (Gr. = 800).
- f, asques (Gr. = 800).
- h, ascospores (Gr. = 800).
- s, hyphes vésiculeuses (Gr. = 530).

FIG. 3. *Sterigmatocystis nigra* Van Tieghem.

- a, appareil conidien (Gr. = 250).
- c, conidies (Gr. = 530).
- d, conidies germant (Gr. = 530).

- e, sommet du conidiophore avec basides et stérigmates (Gr. = 530).
- k, conidies endogènes observées sur jeune culture cellulaire (Gr. = 800)

FIG. 4. *Sterigmatocystis carbonaria* Bainier.

- a, appareil conidien (Gr. = 250).
 - c, conidies (Gr. = 530)
 - d, conidies germant (Gr. = 530).
 - e, sommet du conidiophore avec basides et stérigmates (Gr. = 530),
 - k, conidies endogènes observées sur jeune culture cellulaire (Gr. = 800).
-

PLANCHE II.

FIG. 5. *Sterigmatocystis lutea* Bainier.

- a, appareil conidien (Grossissement = 530).
- b, basides et stérigmates (Gr. = 530).
- c, conidies (Gr. = 530).
- d, conidies germant (Gr. = 530).
- e, tête de conidiophore écrasée sous la lamelle (Gr. = 530).
- m, unique conidie en culture cellulaire après 48 heures à 37° (Gr. = 250).

FIG. 6. *Sterigmatocystis fusca* Bainier.

- a, appareil conidien (Gr. = 250).
- c, conidie (Gr. = 530).
- d, conidie germant (Gr. = 530).
- e, sommet du conidiophore avec basides et stérigmates (Gr. = 530).
- k, conidiophore anormal (forme *Aspergillus*) et conidies endogènes observées dans une jeune culture cellulaire (Gr. = 800).
- n, formes aspergilloïdes assez fréquentes dans les cultures en cellule (Gr. = 530).

FIG. 7. *Pœcilomyces Varioti* Bainier.

- a, appareil conidien (Gr. = 250).
 - b, formation de stérigmates (Gr. = 530).
 - b', autre forme de stérigmate moins fréquente (Gr. = 530).
 - c, conidie (Gr. = 530).
 - d, conidie germant (Gr. = 530).
 - e, stérigmates (Gr. = 530)
 - p, formes de souffrance, avec globules gras (Gr. = 250).
 - r, filaments submergés sans appareil conidien (Gr. = 530)
-

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

N. B.— Cet index ne mentionne que les ouvrages ou mémoires auxquels nous nous sommes référé. La bibliographie complète, pour ce qui a trait notamment aux Mucédinées pathogènes, se trouve dans les travaux d'ensemble cités ici [3, 7, 25, 32, 35, 55, 58, 72, 80].

- 1 BAINIER (G.). — *Sterigmatocystis et Nematogonum* Bull. Soc. Bot. Fr., XXVIII, 1880, p. 28).
- 2 BAINIER (G.). — *Pœcilomyces Varioti* (Bull. Soc. Myc. Fr., XXIII, 1907, p. 26).
- 3 BARTHELAT (G. J.).— *Les Mucorinées pathogènes et les mucormycoses chez l'homme et les animaux* (Thèse Fac. Méd. Paris, et Arch. de Parasitol., VII, pp. 5-117, 1903).
- 4 BEHRENS (J.). — *Ueber ein bemerkenswertes Vorkommen und die Perithezien des Aspergillus fumigatus* (Ctbl. f. Bakt., XI, 1892, p. 335).
- 5 BODIN (E.).— *Les Champignons parasites* (Paris, 1901, Masson).
- 6 BODIN (E.) et GAUTIER (L.). — *Note sur une toxine produite par l'Aspergillus fumigatus* (Ann. Inst. Pasteur, XX, 1906, pp. 209-224).
- 7 BODIN et SAVOURÉ.— *Recherches expérimentales sur les mycoses internes* (Arch. Parasitol., VIII, 1904, pp. 110-136).
- 8 BOULANGER-DAUSSE (E.).— *Action du gaïacol sur la germination des spores de l'A. fumigatus* (Journ. de Ph. et de Ch., V, 1897, pp. 332-386).
- 9 BOURNAY.— *Pneumomycose aspergillaire chez une vache* (Revue Vétérinaire de Toulouse, XV, 1895, p. 295).
- 10 BOURQUELOT (E.).— *Les ferments solubles de l'Aspergillus niger* (Bull. Soc. Myc. Fr., IX, 1893, pp. 230-239).

- 11 BOURQUELOT (E.). — *Les ferments solubles (diastases-enzymes)*, Société d'Editions scientifiques. Paris, 1896, 220 p.
- 12 BOURQUELOT et GRAZIANI. — *Sur quelques points relatifs à la physiologie du Penicillium Duclauxii* (Bull. Soc. Myc. Fr., VIII, 1892, pp. 147-153).
- 13 BRUMPT (E.). — *Les mycétomes* (Arch. de Parasitol., X, 1906, et Thèse Fac. Méd. Paris, 1906, 96 p., 10 pl.).
- 14 CENI (CARLO) et BESTA (CARLO). — *Ueber die Toxine von Aspergillus fumigatus und A. flavescens und deren Beziehungen zur Pellagra* (Ctbl. f. allg. Pathologie u. pathol. Anatomie, XIII, 1902, pp. 930-941).
- 15 CENI (CARLO) et BESTA (CARLO). — *Die pathogenen Eigenschaften des Aspergillus niger mit Bezug auf die Genese der Pellagra* (ZIEGLER's Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Path., XXXVII, 1905, p. 578).
- 16 COHN. — *Thermogene Wirkungen von Pilzen (A. fumigatus)* (Jahresb. d. Schlesisch. gesellsch. f. vaterland. cultur., 1888, p. 156).
- 17 COSTANTIN (J.) et LUCET (A.). — *Sur le Sterigmatocystis pseudonigra* (Bull. Soc. Myc. Fr., XIX, 1903, pp. 33-45).
- 18 COSTANTIN (J.) et LUCET (A.). — *Recherches sur quelques Aspergillus pathogènes* (Ann. Sc. Nat. Bot., II, 1905, pp. 119-171).
- 19 COUPLIN (H.). — *Sur la nutrition du Sterigmatocystis nigra* (C. R., 1903, 1^{re} série, p. 392).
- 20 COUPIN (H.) et FRIEDEL (J.). — *Sur la biologie du Sterigmatocystis versicolor* (C. R., CXXXVIII, 1904, p. 1118).
- 21 CROOKSHANK (E.-M.). — *An introduction to practical bacteriology based upon the methods of Koch*. (H. K. Lewis, London, 1886, 249 p.).
- 22 DANGEARD (P. A.). — *L'origine du périthèce chez les Ascomycètes* (Le Botaniste, 10^e série, 1907).
- 23 DEGNER. — *Annales physico-med. Wratislavienses, Tentamen*, XXVIII, p. 643 — sans date. — D'après Robin.
- 24 DE SEYNES (J.). — *Recherches pour servir à l'histoire naturelle des végétaux inférieurs* (G. Masson, Paris, III, 1886, 85 p.).
- 25 DUBREUILH (W.). — *Des moisissures parasitaires de l'homme et des animaux supérieurs* (Arch. de Méd. expér. et d'Anat. pathol., 1^{re} série, III, 1891, pp. 428-448 et 566-592).
- 26 DUCLAUX (E.). — *Traité de microbiologie, II (diastases, toxines et venins)*. G. Masson, Paris, 1899, 768 p.).
- 27 EFFRONT (J.). — *Les enzymes et leurs applications* (G. Carré et C. Naud. Paris 1899, 370 p.).

- 28 EIDAM (E.). — *Zur Kenntniss der Entwicklung bei den Ascomyceten* (Cohn's Beiträge, III, 1879-83, pp. 377-434, 5 pl.).
- 29 ERRERA (L.). — *Hérédité d'un caractère acquis chez un champignon pluricellulaire, d'après les expériences de M. le Dr HUNGER* (Bull. Acad. R. de Belgique, 1899, pp. 81-102).
- 30 FRESenius (G.). — *Beiträge zur Mykologie* (Heinrich Ludwig Brönnner, Frankfurt, 1850-1863, III, 13 pl.).
- 31 GAUTIER (L.). — *Recherches biologiques sur quelques Champignons parasites de l'Homme et des animaux* (Thèse Fac. Sc. Paris, 1907, 150 p.).
- 32 GÉDELST (L.). — *Les Champignons parasites de l'Homme et des animaux* (H. Lamertin, Bruxelles, 1902, 200 p.).
- 33 GRIJNS (G.). — *Die Ascusform des Aspergillus fumigatus* (Ctbl. f. Bakt. XI, 1903, pp. 330-332, 6 fig.).
- 34 GRIMBERT (L.). — *Diagnostic des bactéries par leurs fonctions biochimiques* (Thèse Fac. Méd., Paris, 1903, et Arch. de Parasitol. VII, 1903, pp. 237-306).
- 35 GUÉGUEN (F.). — *Les champignons parasites de l'Homme et des animaux* (A. Joanin et C^{ie}, Paris 1904, 299 p., 12 pl.).
- 36 GUÉGUEN (F.). — *Recherches sur les organismes mycéliens des solutions pharmaceutiques. Etudes biologiques sur le Penicillium glaucum* (Thèse Doct. Pharm., Paris 1899, et Bull. Soc. Myc. Fr., XIV, 1898, pp. 201-255, XV, 1899, pp. 15-36).
- 37 GUÉGUEN (F.). — *Sur une nouvelle espèce de Sterigmatocystis* (Bull. Soc. Myc. Fr., XV, 1899, pp. 171-188, avec fig.).
- 38 GUÉGUEN (F.). — *Sur l'emploi des bleus pour coton et pour laine dans la technique mycologique.* (Bull. Soc. Myc. Fr., XXI, 1905, pp. 42-46).
- 39 GUÉGUEN (F.). — *Gliomastix chartarum, nov. gen. n. sp. ; Contribution à l'étude de la formation endogène des conidies* (Bull. Soc. Myc. Fr., XXI, 1905, pp. 230-242, 2 pl.).
- 40 GUÉGUEN (F.). — *Emploi du Sudan III comme colorant mycologique, seul ou combiné au bleu coton et à l'iode* (Bull. Soc. Myc. Fr., XXII, 1906, pp. 223-226).
- 41 GUÉGUEN (F.). — *Pipette protégée pour prélèvements aseptiques* (Soc. Biol., LXII, 1907, p. 847).
- 42 GUÉGUEN (F.). — *Sur une méthode précise de détermination des pouvoirs antiseptiques* (Soc. Biol., LXIV, 1908, p. 344). |
- 43 HEIDER. — *Ueber das Verhalten der Ascosporen von Aspergillus nidulans Eidam in Thierkörper* (Ctbl. f. Bakt., I, 1890, p. 553).
- 44 HORN (Ph.-S.). — *De situ correptis partibus corporis humani viventis. — Verschimmelung in lebenden Körper, von den vers*

- chimmelten Gliedern* (Dissertation inaugurale, Rostock, 1739)
D'après ROBIN.
- 45 JAVILLIER (M.). — *Sur l'influence favorable qu'exercent de très petites quantités de zinc sur la végétation de l'Aspergillus niger Cramer* (Bull. Sc. Pharmacol., XIV, 1907, pp. 694-698).
- 46 JAVILLIER (M.). — *Sur la fixation du zinc par le Sterigmatocystis nigra* V. Tgh. (Bull. Sc. Pharmacol., XV, 1908, pp. 129-132).
- 47 JOURDE (A.). — *Action d'une Mucédinée, le Pœcilomyces Varioti, sur les hydrates de carbone* (Soc. Biol., LXIII, 1907, p. 264).
- 48 JUNITZKY (N.). — *Ueber Zymase aus Aspergillus niger* (Ber. d. deutsch. bot. Gesell., XXV, 1907, pp. 210-212).
- 49 KAUFMANN (M.). — *Infection produite par l'Aspergillus glaucus* (Soc. des Sc. Méd. de Lyon, 1882, et Lyon médical, XXXIX, 1883, nos 4 et 10).
- 50 KOTLIAR (E.). — *Contribution à l'étude de la pseudo-tuberculose aspergillaire* (Ann. Institut Pasteur, VIII, 1894, pp. 479-490).
- 51 LABORDE (J.). — *Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, l'Eurotiosis Gayoni*. — Thèse Fac. Sc. Paris, 1896, 120 p.).
- 52 LESAGE. — *Germination des spores de Sterigmatocystis nigra dans la trachée de quelques oiseaux* (C. R., CXXXV, 1902, p. 632).
- 53 LICHTHEIM. — *Ueber pathogene Schimmelpilze, die Aspergillus mykosen* (Berliner klin. Wochenschr., 1882, nos 9, 10).
- 54 LINDT (W.). — *Mittheilungen über einige neue pathogen Schimmelpilze* (Arch. f. experimentelle Pathol., 1886, XXI).
- 55 LUCET (A.). — *De l'Aspergillus fumigatus chez les animaux domestiques et dans les œufs en incubation* (Ch. Mendel, Paris, 1897, 108 p., 14 microphoto).
- 56 LUTZ (L.). — *Sur une déformation de l'appareil sporifère du Sterigmatocystis nigra dans certains milieux artificiels* (Bull. Soc. Myc. Fr., XXI, 1905, pp. 131-136).
- 57 LUTZ (L.) et GUÉGUEN (F.). — *De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des Mucédinées et des levûres* (Congrès international de Bot. à l'Exp. univ. de 1900, Paris. Extrait des comptes rendus, pp. 415-423).
- 58 MACÉ (Ch.). — *Études sur les mycoses expérimentales (aspergillose et saccharomycose)*. (Thèse Fac. Méd. Paris et Arch. de Parasitol., VII, 1903, pp. 313-370, 5 fig.).
- 59 MOLLIARD et COUPIN. — *Sur les formes tératologiques du Sterigmatocystis nigra privé de potassium* (C. R., 1903, p. 1695 et Revue générale Bot., XV, 1903, pp. 401-406).

- 60 NEUMANN (L.-G.). — *Traité des maladies parasitaires non microbiennes des animaux domestiques* (Asselin et Houzeau, Paris 1892, 2^e édition, 768 p. 364 fig.).
- 61 NICOLLE (Ch.) et PINOY (E.). — *Sur un cas de mycétome d'origine aspergillaire observé en Tunisie* (Arch. de Parasitol., X, 1906, pp. 437-458, 1 pl.).
- 62 NICOLLE (Ch.) et PINOY (E.). — *Sur la fructification des champignons pathogènes à l'intérieur même des tissus chez l'homme* (C. R., CXLIV, 1907, p. 396).
- 63 OLSEN (Johan). — *En ny pathogen Mugsop, Aspergillus subfuscus nov. spec.* (meddelelser fra den naturh. Forening i Kristiania, 1885, p. 50, et Bot. Jahresb., 1886, p. 476).
- 64 OLSEN (J.) et GADE (F.-G.). — *Undersogelser over Aspergillus subfuscus som pathogen Mugsop* (Analyse in Baumgarten's Jahresb., II, 1886, p. 326).
- 65 OTTO (de FRIBOURG EN BRISGAU). — *Ueber die Giftwirkung einiger Stämme von Aspergillus fumigatus und Penicillium glaucum nebst einigen Bemerkungen über Pellagra* (Zeitschr. f. klin. Med., LIX, 1895, p. 322).
- 66 PINARD (P.). — *Ferments solubles sécrétés par l'Aspergillus repens et l'Aspergillus clavatus* (Thèse Doct. Pharm., Bordeaux, 1902, 86 p., 2 pl.).
- 67 PINOY (E.). — *Les champignons pathogènes* (Bull. Institut Pasteur, I, 1903, pp. 761-774 et 809-823).
- 68 PINOY (E.). — *Reproduction expérimentale du mycétome à grains noirs* (C. R., CXLIII, 1906, p. 1175).
- 69 PFEFFER (W.). — *Ueber Elektion organischer Nährstoffe* (Aspergillus niger, fumigatus, flavescens). (Jahrb. f. wissenschaft. Botan., 1895, p. 205).
- 70 RAULIN (J.). — *Etudes chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une Mucédinée dans un milieu artificiel* (Aspergillus niger). (Thèse Fac. Sc. Paris, 1870, et Ann. des Sc. Nat., 1869, pp. 93-229).
- 71 RAY (J.). *Variations des champignons inférieurs sous l'influence du milieu* (Thèse Fac. Sc. Paris, 1897, et Rev. gén. de Bot., 1897, p. 193, 245, 282).
- 72 RÉNON (L.). — *Etude sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'Homme* (Masson et Cie, 1897, 302 p., 11 fig.).
- 73 ROBIN (Ch.). — *Histoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'Homme et les animaux vivants* (J.-B. Baillière. Paris 1853, 704 p., atlas de 15 pl.).
- 74 SACCARDO (P.-A.). — *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Patavii.

- 75 SARTORY (A.). — *Etudes expérimentales de l'influence de l'agitation sur les champignons inférieurs* (Thèse Fac. Sc. Paris 1908, 142 p., 20 pl.).
- 76 SARTORY (A.). — *Peptonification du lait par certaines moisissures* (Soc. Biol., LXIV, 1908, p. 789).
- 77 SARTORY (A.) et JOURDE (A.). — *Caractères biologiques et pouvoir pathogène du Sterigmatocystis lutea Bainier* (C. R., CXLVI, 1908, p. 548).
- 78 SARTORY (A.) et JOURDE (A.). — *Caractères morphologiques, biologiques et pouvoir pathogène du Sterigmatocystis fusca Bainier* (Soc. Biol., LXIV, 1908, p. 926).
- 79 SARTORY (A.) et JOURDE (A.). — *Pouvoir pathogène des Sterigmatocystis nigra et St. carbonaria* (Soc. Biol., LXIV, 1908, p. 1135).
- 80 SAXER (F.). — *Pneumomykosis aspergillina. Anatomische und experimentelle Untersuchungen.* — Gustav Fischer, Iena, 1900, 169 p., 4 pl. coloriées).
- 81 SCHWARTZ (G.). — *Ein operativ behandelter Fall von Pneumomycosis aspergillina* (Zeitschr. f. klin. Med., 1904, LVI, p. 120).
- 82 SIEBENMANN (F.). — *Die Fadenpilze Aspergillus flavus, niger und fumigatus; Eurotium repens* (J.-F. Bergmann, Wiesbaden, 1883, 72 p., 3 pl.).
- 83 SIEBENMANN (F.). — *Die Schimmelmycosen des menschlichen Ohres* (J.-F. Bergmann, Wiesbaden, 1889, 118 p., 4 pl.).
- 84 SPRING. — *Sur une Mucédinée développée dans la poche aérienne abdominale d'un Pluvier doré* (Bull. Acad. R. de Belgique, 1848).
- 85 TANRET. — *Action du nitrate d'ammoniaque sur l'Aspergillus niger* (C. R., CXXIII, 1896, p. 948).
- 86 VAN TIEGHEM (Ph.). — *Traité de Botanique* (F. Savy, Paris, 1891, 2^e édition).
- 87 VAN TIEGHEM (Ph.). — *Recherches pour servir à l'histoire des Mucédinées. — Fermentation gallique* (Ann. Sc. Nat., VIII, 1867, pp. 210-245).
- 88 VAN TIEGHEM (Ph.). — *Sur le développement de quelques Ascomycètes* (Bull. Soc. Bot. Fr., 1877, p. 96, 167, 206).
- 89 VAN TIEGHEM (Ph.) et LE MONNIER (G.). — *Recherches sur les Mucorinées* (Ann. Sc. Nat., XVII, 1873, pp. 261-400).
- 90 WEHMER (C.). — *Die Pilzgattung Aspergillus* (Ch. Eggiman et Cie, Genève, 1901, 159 p., 5 pl.).

Les chiffres suivis des lettres C. des C., intercalés dans les descriptions, renvoient au numéro correspondant du *Code des Couleurs*, de KLINCKSIECK et VALETTE (P. Klincksieck, éditeur, Paris 1908).

VU, bon à imprimer :
Le Président de la Thèse,
RADAIS.

VU :
Le Directeur de l'Ecole,
GUIGNARD.

VU, et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction. — Historique.....	5

PREMIÈRE PARTIE.

Chapitre I. Technique pour l'étude morphologique..	13
— II. Technique pour l'étude biologique	18
— III. Technique pour l'étude pathogénique....	30

DEUXIÈME PARTIE.

Chapitre I. <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius.....	39
— II. <i>Sterigmatocystis nidulans</i> Eidam.....	47
— III. — <i>nigra</i> Van Tieghem ...	54
— IV. — <i>carbonaria</i> Bainier.....	65
— V. — <i>lutea</i> Bainier.....	73
— VI. — <i>fusca</i> Bainier.....	80
— VII. <i>Pæcilomyces Varioti</i> Bainier.....	88
Conclusions	97
Explication des planches	101
Index bibliographique.....	105

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
